



**Actividad antimicrobiana *in vitro* de Naringina frente a patógenos
de la cavidad oral. Revisión sistemática**

Freddy Alexander Ochoa

Olger Camilo Portillo

Trabajo de Grado para optar el título de Odontólogo

Universidad Antonio Nariño

Facultad de ciencias de la salud

Programa de Odontología

Bucaramanga

2021



**Actividad antimicrobiana *in vitro* de Naringina frente a patógenos
de la cavidad oral. Revisión sistemática**

Freddy Alexander Ochoa

Olger Camilo Portillo

Asesor Científico y Metodológico

Dra. Juana Patricia Sánchez Villamil, PhD, MSc

Asesor Externo

Dr. Julián Paul Martínez Galán, PhD, Docente UdeA

Área de investigación: Ciencias odontológicas y microbiología oral

Línea de investigación: Ciencias básicas aplicadas a la clínica

Universidad Antonio Nariño

Facultad de ciencias de la salud

Programa de Odontología

Bucaramanga

2021



Nota de Aceptación

Firma del Evaluador

Firma del director



Dedicatoria

“A mis padres quienes siempre me
acompañaron en el proceso formativo, siendo
mi estandarte y fortaleza”



Agradecimientos

A nuestros padres, a Dios, y a la institución y sus docentes quienes de una u otra manera aportaron al desarrollo del presente estudio.



Tabla Contenido

Tabla Contenido.....	6
Resumen	10
Introducción.....	14
1 Planteamiento del Problema	16
2 Justificación	18
2.1 Pregunta de Investigación	19
3 Objetivos.....	20
1.1 Objetivo general	20
3.1 Objetivos Específicos.....	20
4 Marco teórico	21
4.1 Patología Infecciosa en Cavidad Oral.....	21
4.1.1 Caries.....	21
4.1.2 Enfermedad Periodontal	22
4.1.3 Agentes Etiológicos de LA Enfermedad Periodontal	23
4.1.4 Infecciones Pulpares.....	23
4.1.5 Mecanismos de resistencia a antibióticos.....	30
4.1.6 Aftosis oral.....	35
4.2 Bioflavonoides.....	36
4.2.1 La Naringina y sus derivados enzimáticos	37
4.3 Métodos de estudio de la sensibilidad antimicrobiana	Error! Bookmark not defined.
4.3.1 Dilución en caldo	Error! Bookmark not defined.
4.3.2 Dilución en agar	Error! Bookmark not defined.
4.3.3 Difusión en disco	44
4.4 Estado del arte de actividad antimicrobiana de Naringina.....	40
5 Metodología	44
5.1 Diseño de la investigación.....	45



5.2	Bases de información	45
5.3	Estrategia de búsqueda de literatura	45
5.4	Criterios de selección	46
5.5	Extracción de datos y análisis.....	46
5.6	Análisis estadístico	47
5.7	Consideraciones éticas	47
6	Resultados	48
6.1	Resultados del proceso de búsqueda y selección de artículos.....	48
1.1	Identification.....	50
1.2	Eligibilidad	50
1.3	Inclusion.....	50
1.4	Selection.....	50
6.2	Actividad antimicrobiana de la naringina contra <i>Staphylococcus aureus</i>	51
6.3	Actividad antimicrobiana de la naringina contra <i>Streptococcus mutans</i>	54
6.4	Actividad antimicrobiana de la naringina contra <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	55
6.5	Actividad antimicrobiana de la naringina contra <i>Enterococcus faecalis</i>	55
6.6	Actividad antimicrobiana de la naringina contra <i>Porphyromonas gingivalis</i>	56
6.7	Actividad antimicrobiana de la naringina contra <i>Candida albicans</i>	57
7	Discusión	60
8	Conclusiones	63
	Bibliografía	Error! Bookmark not defined.
9	64
	Artículo	Error! Bookmark not defined.



Lista de Figuras

Figura 1. Árbol de la vida eucariota	26
Figura 2 Mecanismos de resistencia antimicrobiana del <i>E. faecalis</i>	29
Figura 3. Estructura química de los flavonoides	37
Figura 4. Diagrama de flujo PRISMA.....	50



Lista de Tablas

Tabla 1. Estrategia de búsqueda	48
Tabla 2. Estudios de actividad inhibitoria de naringina contra Staphylococcus aureus	52
Tabla 3. Estudios de actividad inhibitoria de naringina contra Streptococcus mutans.	54
Tabla 4. Estudios de actividad inhibitoria de naringina contra Aggregatibacter actinomycetemcomitans	55
Tabla 5. Estudios de actividad inhibitoria de naringina contra Enterococcus faecalis	56
Tabla 6. Estudios de actividad inhibitoria de naringina contra Porphyromonas gingivalis	57
Tabla 7. Estudios de actividad inhibitoria de naringina contra Candida albicans	58
Tabla 8. Tabla resumen de concentraciones mínimas inhibitorias de naringina frente a principales odontopatógenos	59



Resumen

Introducción. Los microorganismos patógenos y microbiota oportunista de la cavidad oral causan infecciones localizadas y/o pueden diseminarse a otras zonas del organismo. Bioflavonoides de frutos cítricos como la naringina, poseen varias propiedades importantes entre ellas la antimicrobiana. ¿Qué evidencia existe sobre su actividad frente a los principales agentes infecciosos involucrados en la patología oral?

Objetivo. Evaluar y sintetizar resultados de actividad antimicrobiana de naringina frente a principales microorganismos involucrados en infecciones odontogénicas.

Métodos. Se realizó una revisión sistemática de estudios *in vitro* evaluando el efecto antimicrobiano de naringina, publicados hasta agosto de 2021. Se buscó en Pubmed, ScienceDirect, Scopus y Scielo. La estrategia de búsqueda no tuvo restricciones de lenguaje y los términos MeSH utilizados fueron: naringina, "*Staphylococcus aureus*", "*Streptococcus mutans*", "*Enterococcus faecalis*" y "*Porphyromonas gingivalis*" "*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*" y "*Prevotella intermedia/nigrescens*". Dos autores independientemente revisaron criterios de elegibilidad para inclusión y cualquier desacuerdo fue resuelto por consenso. Los efectos evaluados fueron el método microbiológico utilizado, la concentración mínima inhibitoria y halo de zona de inhibición.

Resultados: Se incluyeron 12 estudios. Los estudios *in vitro* demuestran que naringina posee actividad bacteriostática contra los principales odontopatógenos. No se hallaron estudios frente al género *Prevotella*. La concentración mínima inhibitoria contra



Staphylococcus aureus fue de 16 $\mu\text{g} / \text{mL}$; contra *Streptococcus mutans* 0,25 g / mL; contra *Enterococcus faecalis* 8 g / mL; contra *Porphyromonas gingivalis* 0,1 g / mL; contra *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* 0.25 g / mL y contra *Candida albicans* 0.00098 $\mu\text{g} / \text{mL}$

Conclusiones. La naringina presenta efecto bacteriostático frente a los principales agentes infecciosos en patología oral y efecto bactericida a altas concentraciones frente a *Porphyromonas gingivalis*. Naringina muestra un alto potencial como principio activo para el desarrollo de irrigantes u otros productos en odontología.

Palabras clave: naringina, microbiología, agentes antibacterianos, Concentración mínima inhibitoria, "*Staphylococcus aureus*", "*Streptococcus mutans*", "*Enterococcus faecalis*", "*Porphyromonas gingivalis*" "*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*", "*Prevotella spp*"



Abstract

Introduction. Pathogenic and opportunistic microorganisms in the oral cavity microbiota cause localized and spreading infections in the body. Citrus fruit bioflavonoids such as naringin have several important properties, including antimicrobial properties. What is the research evidence for antimicrobial activity of naringin against main pathogenic bacteria in oral cavity?

Objective. To evaluate and synthesize results of antimicrobial activity of naringin against the main microorganisms involved in odontogenic infections.

Methods. It was carried out a systematic review of in vitro studies evaluating the antimicrobial effect of naringin published until August 2021. Search without language restrictions was performed in electronic databases: Pubmed, ScienceDirect, Scopus and Scielo. Exclusion criteria were studies in which naringin was not specified as a component. MeSH terms used were: naringin", "*Staphylococcus aureus* ", "*Streptococcus mutans* ", "*Enterococcus faecalis* "and" *Porphyromonas gingivalis* "" *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* "and" *Prevotella intermedia/nigrescens* ". Both authors independently reviewed eligibility criteria for inclusion and any disagreements resolved by



consensus the outcomes considered were microbiological method, minimal inhibitory concentration and zone of inhibition.

Results: Twelve studies were included. In vitro studies show that naringin has bacteriostatic activity against the main odontopathogenic bacteria. No studies were found against *Prevotella spp.* The minimum inhibitory concentration against *Staphylococcus aureus* was 16 µg / mL; for *Streptococcus mutans* 0.25 g / mL; for *Enterococcus faecalis* 8 mg / mL; for *Porphyromonas gingivalis* 0.1 g / mL; for *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* 0.25 g / mL and *Candida albicans* 0.00098 µg / mL

Conclusions. Naringin has a bacteriostatic effect against the main infectious agents in oral pathology and a bactericidal effect at high concentrations against *Porphyromonas gingivalis*. Naringin shows high potential as an active principle for the development of irrigants or other products in dentistry.

Key words: naringin, microbiology, anti-bacterial agents, minimum inhibitory concentration, "*Staphylococcus aureus*", "*Streptococcus mutans*", "*Enterococcus faecalis*", "*Porphyromonas gingivalis*" "*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*", "*Prevotella spp*"



Introducción

La cavidad oral es la segunda zona corporal después del intestino, donde existe gran abundancia y diversidad de bacterias que forman el microbiota (Deo, 2019) . Las bacterias Gram-positivas como los *Streptococcus*, quien es el género colonizador más importante, forman el 63% de la placa aislada posterior a cuatro horas de formación (Thenisch N. L., 2006). También se encuentran otras bacterias patógenas que a causa de la disbiosis y/o alteraciones de la respuesta inmunológica del huésped se hayan asociadas a patología infecciosa como: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Porphyomonas gingivalis* (Schmidt et al, 2014), *Candida albicans*, entre otros. El uso inadecuado de antibióticos contra estos microorganismos genera posibles resistencias bacterianas (Cruz E. M., 2015).

Desde ya hace varias décadas se ha evaluado las propiedades antimicrobianas de los bioflavonoides, como agentes inhibidores de enzimas microbianas (Botta et al., 2005). La Naringina, como principal flavonoide de las frutas cítricas, identificado en 1857 por De Vry (Pang et al., 2010) es una de las principales flavanonas que, al igual que otros bioflavonoides también presenta un amplio rango de actividades farmacológicas como actividad antioxidante, anti inflamatorio, anti cancerígeno y poder regenerador (Chen *et al*, 2016). Teniendo en cuenta estas propiedades podría perfilarse como un excelente



compuesto de gran valor en odontología, para el manejo de la patología infecciosa en cavidad oral.

El presente documento pretende revisar y sintetizar la evidencia acerca de la actividad de naringina frente a los principales patógenos de la cavidad oral. Por tanto, encontrará los fundamentos básicos de la naringina, los patógenos orales y la metodología, resultados y conclusiones extraídas de esta revisión, como un primer paso a la utilización de naringina como alternativa en tratamientos endodónticos, periodontales o para la prevención y control de cualquier infección en el sistema estomatognático.



1 Planteamiento del Problema

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), las enfermedades infecciosas bucodentales afectan a casi 3500 millones de personas (OMS, 2020). Según el estudio de la carga mundial de morbilidad 2017-The *Global Burden of Disease Study 2017*-, las enfermedades de la cavidad oral es una de las tres principales causas de carga de enfermedad para todas las edades y ambos sexos (GBD, 2018). En Colombia los principales eventos en salud oral que afectan a gran parte de la población son la caries y la periodontitis. La caries oscila entre 31,53 % y 55,45% y la enfermedad periodontal con una prevalencia de aproximadamente el 94% (Castilla, Mora, Rueda, & Villabona, 2018).

En cavidad oral, los microorganismos oportunistas y los patógenos representan un problema cuando recolonizan y sobreviven en espacios particulares, permitiendo que se produzca una infección localizada e incluso migre a cualquier otro lugar del cuerpo. Microorganismos como el *Enterococcus faecalis*, forma biopelículas en conductos radiculares ocasionando necrosis y periodontitis apicales primarias y persistentes (Siqueira, 2010). Se encuentra involucrado con el fracaso de tratamientos endodónticos ya que puede sobrevivir y multiplicarse en microambientes tóxicos como el Hidróxido de Calcio, así como a la instrumentación químico-mecánica de los conductos radiculares, colonizando y/o reinfectando los túbulos dentinarios en conductos obturados (Carrero, González, Martínez, Serna, & Díez, 2015)



Los compuestos metabólicos antioxidantes de origen vegetal como los bioflavonoides, han sido reconocidos por sus múltiples funciones entre ellas antiinflamatorias (Pérez-Cano, 2016) y antimicrobianas (Górniak, 2019). Naringina incrementa la permeabilidad y disipa el potencial de la membrana bacteriana (fuerza motriz de protones), disminuyendo la resistencia bacteriana; además inhiben la motilidad bacteriana, factor importante en la virulencia (Dey *et al*, 2020). En odontología se estudia o se aprovecha poco el conocimiento de la acción antimicrobiana de compuestos naturales; así la valoración de naringina como alternativa para el control de microorganismos patógenos orales es una posibilidad hasta ahora inexplorada.

Por tanto, con el presente trabajo se pretende indagar el posible efecto inhibitor y/o bactericida que posea la Naringina sobre principales patógenos en cavidad oral que nos permita vislumbrar este compuesto natural como alternativa para prevención, control, irrigante o manejo terapéutico y sobre todo en microorganismos con resistencia antibiótica.



2 Justificación

Naringina es un compuesto bioflavonoide antioxidante natural presente en pomelo, toronja, naranja, tomate y otros cítricos; siendo de fácil obtención dado que la materia prima es de bajo costo (Peterson, 2006; Hernandez, 2020). Estudios como el de Kamran y Dangles, 2014, demostraron que naringina presenta respuesta antiinflamatoria al inhibir enzimas responsables de la activación celular, señalización y transducción y de igual manera afectan algunas células involucradas en la respuesta inmune incluyendo linfocitos T y B (Kamran y Dangles 2014). Así mismo, ha demostrado un efecto antimicrobiano (Cushnie y Lamb 2005; Mandalari et al. 2007).

Teniendo en cuenta sus múltiples utilidades, con el presente proyecto se está abriendo puertas a nuevas áreas de investigación en la Facultad de odontología de la sede Bucaramanga, al revisar la actividad de nuevos agentes naturales que puedan ejercer prevención y control sobre los patógenos presentes en la cavidad oral de muchos pacientes y que representan un reto para el manejo odontológico a diario.

Desde este punto de vista, se ofreció un beneficio a los futuros investigadores que quieran profundizar en el campo microbiológico y odontológico. También, en el campo de los compuestos obtenidos y sintetizados de la naturaleza que podrán ser empleados para el manejo terapéutico en odontología y mayores beneficios.



2.1 Pregunta de Investigación

¿La Naringina posee actividad antimicrobiana *in vitro* contra patógenos orales?

La pregunta de revisión fue desarrollada utilizando los siguientes componentes de la estrategia PICO:

Población = "*Staphylococcus aureus*", "*Streptococcus mutans*", "*Enterococcus faecalis*" y "*Porphyromonas gingivalis*" "*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*" y "*Prevotella intermedia/nigrescens*"

Intervención = naringina (o sus derivados como la naringenina)

Comparación= cualquier producto como hipoclorito, clorexidina, antibiotico.

Outcome (evento)= minimum inhibitory concentration (MIC), Minimum bactericidal concentration (MBC, UFC/mL y ZOI (zone of inhibition).



3 Objetivos

3.1 Objetivo general

Evaluar y sintetizar resultados de actividad antimicrobiana de naringina frente a principales microorganismos involucrados en infecciones odontogénicas.

3.2 Objetivos Específicos

- Examinar la literatura existente sobre los valores de concentración mínima de inhibición frente a los patógenos orales (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *E. faecalis*, *Prevotella spp* y *Candida albicans*)
- Describir la actividad antimicrobiana de la Naringina frente a los patógenos orales *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *E. faecalis*, *Prevotella spp.* y *Candida albicans*.



4 Marco teórico

4.1 Patología Infecciosa en Cavidad Oral

Las enfermedades infecciosas son aquellas que están causadas por microorganismos patógenos como las bacterias, los virus, los parásitos o los hongos.

4.1.1 Caries

Enfermedad multifactorial condicionada tanto en su localización y extensión, como en su progresión por elementos, como son las características del huésped (diente), la presencia de bacterias (microflora) y el sustrato (carbohidratos refinados) (Fejerskov, sf.).

Entre los factores etiológicos se considera al huésped, que determina la predisposición de riesgo, otros factores también iguales de importantes, están la morfología dental, la composición y el flujo de la saliva, los procesos eruptivos, y la naturaleza físico-química de la superficie dentaria, los microorganismos, entre los más asociados como el *Streptococcus* especialmente las especies *mutans*, *sanguis* y *salivarius*, y *sobrinus*. Este aspecto microbiológico determina que la caries dental es una enfermedad transmisible (Thenisch, 2006).



4.1.2 Enfermedad Periodontal

Contemplada como una enfermedad infecciosa-inflamatoria, que puede llevar a la pérdida de los tejidos de sostén del diente, por tanto, el tratamiento se orienta al control de la infección y reducción de inflamación; producto de la exposición de las células del epitelio de unión del surco, a los factores de virulencia (lipopolisacárido-LPS, ácido lipoteicoico) las que producen defensinas y citoquinas proinflamatorias (BA., 2002).

Dichas defensinas (péptidos antimicrobianos), las que generan un daño a la superficie bacteriana. Después de estimulada la respuesta inmune innata, desencadena la respuesta inmune adaptativa y aparecen en el tejido conectivo linfocitos T CD4 y linfocitos B, ayudando a resolver el proceso inflamatorio. La estimulación de linfocitos toma entre 5 y 7 días en alcanzar su mayor activación. Por lo tanto, una buena respuesta innata es fundamental para mantener la salud periodontal. Los linfocitos T CD4 producen citoquinas (IFN, IL-2) que promueven una mejor actividad de macrófagos y co-estimulan a los linfocitos B a producir anticuerpos tipo IgG e IgA neutralizantes. El resultado es una respuesta inmune que controla los microorganismos que se están acumulando en el surco periodontal, de forma silenciosa y sin expresar signos clínicos inflamatorios evidentes a simple vista (Pava, 2016).



4.1.3 Agentes Etiológicos de LA Enfermedad Periodontal

Se pueden describir alrededor de 50 especies bacterianas causantes de la enfermedad periodontal., de las cuales con mayor frecuencia están las bacterias anaerobias estrictas, y se les considera los principales agentes etiológicos, sin embargo, en los últimos años se han aislado especies de bacterias no comunes de la familia *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonaceae*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus* y *Streptococcus* beta hemolítico de bolsas periodontales (Guilarte, 2005).

4.1.4 Infecciones Pulpares.

Las lesiones pulpares son producto de la pulpa ante la presencia de un irritante, a la que se adapta primero y en la medida de la necesidad se opone, organizándose para resolver favorablemente la leve lesión o disfunción ocurrida por la agresión. Si ésta es grave (como herida pulpar o caries muy profunda) la reacción pulpar es más violenta; al no poder adaptarse a la nueva situación, intenta al menos una resistencia larga y pasiva hacia la cronicidad; si no lo consigue, se produce una rápida necrosis y aunque logre el estado crónico parece totalmente al cabo de cierto tiempo. Así, la caries dental es el mayor factor etiológico, sin embargo, los traumas dentarios aumentan de manera considerable, y es posible que en el futuro se conviertan en el factor etiológico número uno de la pérdida de tejido pulpar (Corredor & Torres, 2009)



La funcionalidad o propósito de los desinfectantes de conductos radiculares radica en la eliminación de las bacterias durante el tratamiento endodóntico como factor fundamental para lograr el éxito, ya que se ha establecido que muchas alteraciones periapicales son debidas a la presencia de microorganismos dentro del sistema de conductos radiculares y más asociadas a la presencia de *E. faecalis* (Balandrano, 2007).

4.1.4.1 *Enterococcus faecalis.*

El *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) es una bacteria Gram-positiva facultativa anaerobia, comensal del tracto gastrointestinal humano y de otras especies animales (Lebreton, Willems, & Gilmore, 2014). El *Enterococcus faecalis* es una de las principales bacterias persistentes en el canal radicular, y por tanto frecuentemente asociado al fracaso del tratamiento endodóntico (Alghamdi, 2020). Esta bacteria es oportunista y patógeno de gran importancia nosocomial, responsable de causar múltiples infecciones o incluso la muerte (Diaz, Rodríguez, & Zhurbenko, 2010)

Aunque *E. faecalis* no hace parte del microbioma oral, se ha hallado presente en una baja frecuencia en la mucosa oral y especialmente en pacientes portadores de prótesis (Carrero C, et al., 2015). También se ha encontrado en conductos intrarradiculares dentales, donde se ha probado su causalidad en la necrosis pulpar (Pardi, et al., 2009). En lesiones periapicales, es difícil de eliminar por técnicas de instrumentación y/o preparación del conducto, debido a remanentes de tejido necrótico, que le permiten ubicarse en lugares



anatómicos estratégicos que no pueden ser instrumentados y le permiten seguir su colonización (Sanchez, Lopez, Salas, & al., 2015).

El género *Enterococo*, descrito por primera vez en 1899, por Thiercelin, como coco saprófito que pululaba en el tracto gastrointestinal, y fueron MacCallum y Hastings quienes como “un organismo similar”, hicieron la primera descripción de la patogenicidad de lo que hoy día se identifica como *Enterococcus faecalis* como oportunista comensal producto de una endocarditis aguda, como caso letal (Lebreton, Willems, & Gilmore, 2014; Van Tyne, 2014). Se han identificado cerca de 50 especies; entre ellas, *E. faecalis* y *E. faecium* son las más frecuentemente aisladas del tracto gastrointestinal humano (Manson, Rauch, & Gilmore, 2008), aunque en un porcentaje no superior al 0.1% (Schloissnig et al., 2013). El siguiente gráfico muestra los periodos geológicos y animales con los cuales el género bacteriano *Enterococcus* se ha encontrado asociado:

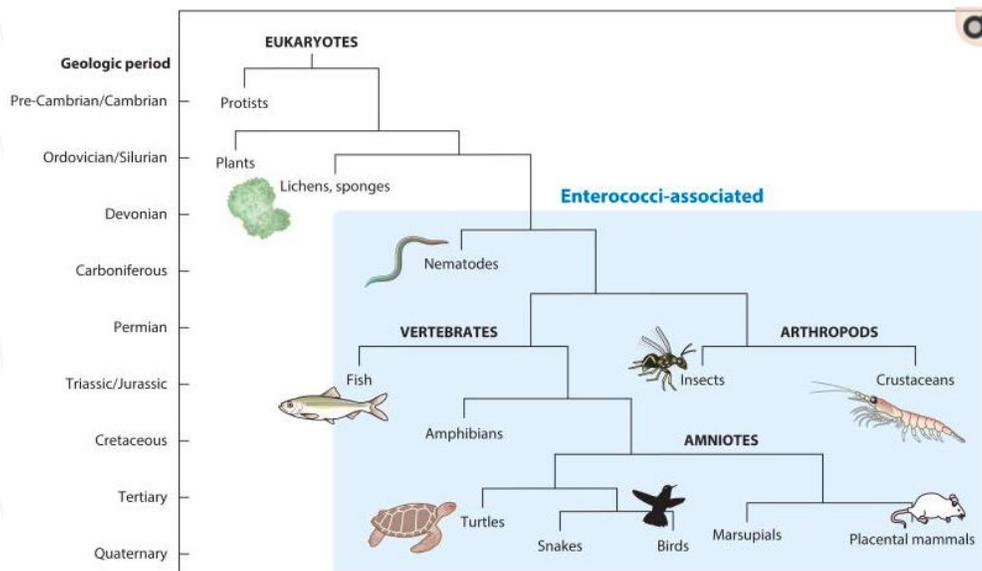


Figura 1. Árbol de la vida eucariota

Fuente. Van Tyne, D., & Gilmore, M. S., 2014.

El *E. faecalis* es bacteria Gram-positiva, entre 0,5 y 0,8 micrómetros de forma ovoide, que se presenta en pares o en cadenas, anaerobio facultativo, inmóvil y no esporulado ni encapsulados, no contienen enzimas citocrómicas, su ácido láctico es producto final de la fermentación de la glucosa sin producir gas (Růžicková, 2020:212; Pardi *et al*; 2009).

Como oportunista, puede causar múltiples infecciones pues se hallan entre los patógenos hospitalarios resistentes a muchos fármacos, que si no son controladas pueden desencadenar en septicemias y por ende pueden llevar a la muerte al individuo si no se trata puntualmente (Van & Martin, 2013).



Esta bacteria ha sido por años, un problema de salud puesto que su fácil diseminación por contacto primordialmente en pacientes hospitalizados y trabajadores sanitarios, también ha creado una resistencia consistente a múltiples antibióticos, hacen que esta bacteria Gram positiva comensal, represente un alto riesgo para la salud en comunidades y sitios de atención clínica donde se presenten múltiples comunidades o personas para atención en servicios de salud (Fariñasa, 2007:500)

Presenta una fácil adherencia a células blanco gracias a la acción de sus adhesinas, las cuales son muy fuertes y por ende, resulta fácil para la bacteria, transportarse a otras regiones anatómicas por la circulación sanguínea, su estructura, también es partícipe ya que facilita a la bacteria inmunidad frente a células de la línea blanca humana debido a su capa de polisacáridos, lo que la hace resistente a los procesos fagocíticos llevados a cabo por dichas células (Peniche & Garza, 1991).

Factores de virulencia / patogenicidad. El potencial patogénico de *E. faecalis* y de los enterococcus en general, es debido a su capacidad de sobrevivir en ambientes hostiles, ya sean físicos y químicos incluyendo detergentes y antisépticos más comunes, también, fluctuaciones de pH, con humedad y sin recursos para alimentarse. Otra de las características notables del *E. faecalis* la constituye su capacidad resistir además a la acción de colorantes como Azul de Metileno al 0,1%. (Pardi G,2009:2).

Entre los factores de patogenicidad, se cuenta con la transmisibilidad, toxicidad e invasividad, mediada por los genes cromosómicos y plásmidos, que incrementan la virulencia, de tres maneras, primero como resistencia a antibióticos (clindamicina,



cefalosporinas y aminoglucósidos) los convierte de inofensivos a microorganismos problemáticos clínicamente, segundo por la capacidad de expandir plásmidos lo que lleva a la codificación de otras resistencias como a la vancomicina y un genoma flexible que lo lleva a adaptarse a diferentes ambientes (Boncompain et al., 2017)

Por tanto, su patogenicidad da inicio con la adhesión al tejido del huésped, para llegar a expresar genes con mayor potencial redox, seguido de la carencia de nutrientes, fagos y otros mecanismos de defensa del huésped (Růžičková, 2020: Ibid.).

Es gracias a la presencia de citolisina o enterocina AS-48 también que se da la colonización del huésped, las cuales pueden llegar a ser bactericidas para otras células bacterianas. Las sustancias de agregación (AS), las cuales facilitan la transferencia de plásmidos (pCF10, lleva genes de resistencia a antibióticos, ubicados en el transposón TN925), son consideradas otro factor de virulencia; mediado gracias a la presencia de antígenos de superficie de la célula donante, facilitando la formación de grupos a partir de la transmisión de un plásmido al receptor en transmisión de señal química (Feromona de nombre péptido hidrofóbico, que induce la respuesta en la célula donante favoreciendo la agregación) de la célula receptora a la donante.

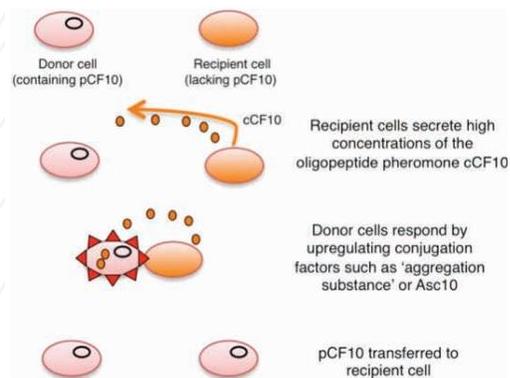
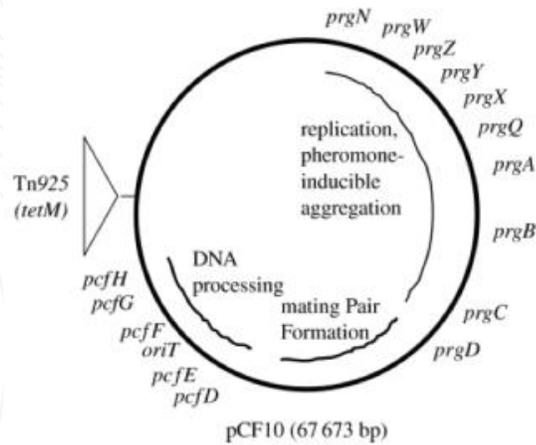


Figura 2 Mecanismos de resistencia antimicrobiana del *E. faecalis*

Fuente. Růžicková, 2020:214

De igual manera se hallan las hemolisinas, bacteriocinas, proteasas y aglutininas.

Además, los carbohidratos de la pared celular o los sitios de unión de la fibronectina, que favorecen la adherencia a los tejidos del huésped, pueden incrementar la patogenicidad

(Gulhan, 2015).



Entre otros factores de virulencia están la proteína de superficie enterocócica y la hialuronidasa, las cuales son transportadas y codificadas por diferentes plásmidos los cuales se han encontrado en diferentes afecciones sistémicas (Gulhan, 2015).

4.1.5 Mecanismos de resistencia a antibióticos

Entre los mecanismos hallados, se encuentran los intrínsecos y los extrínsecos (dosis más altas como a la vancomicina, macrólidos, tetraciclinas, linezolid y cloranfenicol), de donde los más importantes a los que hacen resistencia son los B-lactámicos, (Penicilinas), cefalosporinas, aminoglucósidos, lincosamidas y estreptograminas (García, Castillo, & Salazar, 2014).

La resistencia a los B-lactámicos se da por la baja afinidad a las proteínas de unión a la penicilina (PBP), lo que lleva a un aumento en la concentración mínima inhibitoria (MIC), a pesar que la síntesis de la pared celular llega a interrumpirse gracias a las dosis elevadas de penicilina, es gracias a que la dismutasa que produce el *E. faecalis*, elimina las especies reactivas de oxígeno, aspecto éste que lleva a evitar la lisis celular; considerado por lo tanto un mecanismo intrínseco, pero también existe un mecanismo adquirido en dos sentidos, uno a partir de los genes BLA (codifican la producción de B-lactamasas y conducen a la alteración del anillo B-lactámico en la estructura del antibiótico, lo que lleva a perder propiedades antimicrobianas) y el segundo gracias a la formación de mutaciones



en los genes *pbp5*, como efecto secundario del uso del antibiótico, lo que lleva a una baja afinidad de la región *pbp5* (Ignacio, 2015).

Los mecanismos a los aminoglucósidos se dan primero gracias a la impermeabilidad de la pared celular del *E. faecalis* a los aminoglucósidos (intrínseco); entre los adquiridos se presenta gracias a la transferencia de plásmidos (aportan los genes que codifican la producción de enzimas que pueden inactivar el antibiótico, al imposibilitar la unión a la subunidad ribosómica 30S). Entre los genes se cuenta con el *aac (6')* - *Ie-aph (2'')* - *Ia*. Que codifica la enzima bifuncional, que se encarga de la fosforilación del segundo grupo hidróxido en la estructura química del antibiótico logrando de esta manera inactivar su función: es así que es gracias a este gen que se presenta un gran aumento de la MIC, la resistencia adquirida a la gentamicina y otros aminoglucósidos, exceptuando la estreptomicina, cuya resistencia se origina por la presencia de las enzimas *Ant (6')* - *Ia* ó *Ant (3'')* - *Ia*. las cuales son adeniltransferasas y llevan a la inactivación del antibiótico. También su resistencia se origina a partir de las mutaciones en el ribosoma, lo que imposibilita la unión de la estreptomicina y por ende la síntesis de proteínas no podrá inhibirse (Rawat & Nair, 2010).

Los mecanismos de resistencia a las lincosamidas y estreptograminas (inhiben la síntesis de proteínas al unirse a la subunidad del ribosoma 50S), se presenta en 4 maneras de las cuales una es intrínseca y tres son adquiridas. La primera se da a través de las bombas de iones, las cuales se presentan intrínsecamente gracias al gen *lsa* (responsable de



la resistencia a la clindamicina (lincosamida), quinupristina (estreptogramina de clase B) y dalfopristina (estreptogramina de clase A) (Růžičková, Vítězová, & Kushkevych, 2020).

En el instante en que se presentan la combinación de mecanismos tanto el intrínseco con el adquirido de la bomba de iones, lleva a la cepa a ser resistente a las estreptograminas de clase tanto A como B, llevando a la resistencia de combinaciones como la quinupristina-dalfopristina (usada contra enterococos resistentes a la vancomicina).

Los mecanismos de resistencia a los glucopéptidos como la vancomicina (se une a la terminación D-ala-D-ala del precursor del pentapéptido en un peptidoglicano lo que lleva a inhibir la síntesis de la pared celular), se puede dar cuando hacen transformación del pentapéptido cambiando la terminación D-ala, por la D-lac, precursor que tiene menor afinidad con los glucopéptidos, lo que dificulta la unión del antibiótico con el peptidoglicano. Dicha transformación se da gracias al transposón Tn1546, el cual está encargado de llevar el operón VanA (compuesto por un sistema de vanR y vanS, que regula la expresión génica de las enzimas VanA, VanH, VanX, VanY y VanZ), así es que cuando el sistema percibe la presencia del glucopéptido, hace uso de la autofosforilación para activar VanS para que prosiga con la unión de las D-ala-D-lac al precursor de pentapéptido, lo que deja al precursor pentapéptido sin utilizar, lo que lleva a una baja afinidad por los glucopéptidos y al tiempo elimina los precursores inalterados (Ignacio, 2015).

Los mecanismos al Linezolid (inhibe la síntesis de proteínas al unirse al complejo de iniciación del rRNA 23S) se da cuando las células susceptibles se recombinan con las



alternas lo que lleva al desarrollo de nuevas cepas con mayor cantidad de copias mutadas: o también se puede presentar por el gen *cfr*. (ubicado en el plásmido pEF-01) que codifica la metiltransferasa, que alterna la adenosina en el sitio de unión del linezolid en el rRNA 23S y previene la unión del antibiótico (Rawat & Nair, 2010).

Enfermedades infecciosas asociadas a *Enterococcus faecalis*. *E. faecalis* tiene capacidad de sobrevivir y multiplicarse en microambientes que pudieran ser tóxicos para otras bacterias, como ocurre en presencia de hidróxido de calcio, un agente antimicrobiano alcalino utilizado como medicamento intrarradicular. También se ha demostrado que puede sobrevivir a la instrumentación químico mecánica de los conductos radiculares, colonizando los túbulos dentinarios a una profundidad de 300 micras y re infectando los conductos aún después de estar obturados. *E. faecalis* se ha identificado como causa frecuente de contaminación del sistema de conductos radiculares en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. Los factores de virulencia se han asociado con las distintas etapas de una infección endodóntica, así como con la inflamación periapical. La frecuencia de *E. faecalis* en infecciones endodónticas primarias es del 4%, mientras que en lesiones periapicales persistentes se presenta con una frecuencia del 77%, siendo capaz de sobrevivir como microorganismo único o como mayor componente de la biopelícula, causando fracasos en el tratamiento endodóntico. (Carrero C, 2014)

En múltiples fracasos endodónticos, debido a remanente bacteriano, causado por la deficiente instrumentación mecánica y química durante la endodoncia, causa la infección de los conos de gutapercha, ya que, si se presenta al menos una pequeña población de



bacterias aerobias o anaerobias, para estas es fácil reproducirse y nuevamente colonizar toda la raíz del diente previamente tratado (Gajan *et al*, 2009).

Diversos estudios han revelado que el microbiota de los dientes con fallas en el tratamiento endodóntico, difieren del microbiota encontrado normalmente en los conductos de dientes no tratados. El microbiota que se encuentra en los dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico es predominantemente anaerobia facultativa y Gram positiva, siendo *E. faecalis* la especie que se aísla con mayor frecuencia (Pardi G, 2009). Se ha comprobado su presencia como agente causal de procesos infecciosos orales como necrosis pulpar, conductos expuestos a cavidad oral y periodontitis apicales persistentes (Martínez, 2014)

El enterococo reportado como la tercera causa de infecciones nosocomiales, en consideración a que el 16 % de las infecciones urinarias intrahospitalarias, 12 % de las infecciones de heridas quirúrgicas, 9 % de las bacteriemias nosocomiales y 15 % de los aislamientos sanguíneos de enterococos en EE.UU. son resistentes a vancomicina según la National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) y que para América Latina (SENTRY) se posiciona en el octavo lugar como causa de bacteriemia y como cuarto, causante de infección urinaria y heridas quirúrgicas, por tanto, son un género de patógenos oportunistas de gran importancia médica hoy en día, dada la resistencia adquirida a antibióticos y especialmente las especies *E. faecium* y *E. faecalis* (Ortega, 2010).

El sin número de enfermedades infecciosas constituyen un problema de salud a nivel mundial, así es que se han convertido en un verdadero reto para quienes se enfrentan



al tratamiento de una infección grave causada por estos agentes, ya sea por la resistencia antimicrobiana intrínseca y/o extrínseca, lo que lleva a exigir el desarrollo de buenas prácticas clínicas, un uso adecuado de antibióticos y el reforzamiento de la vigilancia integrada de la infección por dicho microorganismo (Ortega, 2010).

Están considerados entre los factores facilitadores de las mencionadas infecciones nosocomiales de tejidos blancos que llevan a abscesos, infecciones urinarias (uso de catéteres) y de tracto gastrointestinal y endocarditis, la hospitalización de larga duración, el contacto con pacientes y órganos infectados o el trasplante de medula ósea (Růžičková, 2020).

4.1.6 Aftosis oral

Caracterizada por la aparición recurrente de úlceras, las cuales son dolorosas, redondeadas, borde eritematoso, bien definidas, y de fondo pseudomembranoso amarillo-grisáceo en la cavidad oral, en pacientes sanos, que afecta entre el 5 y 25% de la población general, con más incidencia entre los 10 y 19 años y poco en adultos (Porter et al, 1998).

Su patogenia mediada por la herencia, factores hormonales, stress, inmunológicos, alergias alimentarias y fármacos; donde se hace frecuente su aparición después de la administración de antibióticos de amplio espectro, producto de la destrucción de la flora bacteriana saprofita habitual y del aumento de la capacidad patogénica de la *Cándida albicans*, cuyo diagnóstico es netamente clínico; pero ante casos de dudas se puede realizar



un frotis de las lesiones con la tinción de KOH al 10% o al cultivo en medio de Saboureaux.

Candida albicans.

4.2 Bioflavonoides

Los flavonoides son productos obtenidos de la naturaleza y que pertenecen a una clase de metabolitos secundarios de los vegetales con estructura polifenólica y que se encuentran en diferentes frutas y verduras. Cuentan con diversos efectos bioquímicos y antioxidantes en el cuerpo humano y que cumplen un papel importante contra diversas enfermedades como Alzheimer y la arterioesclerosis. Estos flavonoides se emplean en las industrias farmacéuticas, nutracéuticas, medicinales y cosméticas gracias a sus propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antimutagénicas y anticancerígenas. (Of & Science, 2016)

La estructura química básica de los flavonoides se compone de dos anillos de benceno A y C conectados con un anillo de pirano B. Dependiendo de la sustitución de los anillos de benceno y sustitución, oxidación y saturación del anillo de pirano se pueden sintetizar múltiples derivados de flavonoides con propiedades fisicoquímicas únicas con diferentes actividades biológicas para el manejo de diferentes enfermedades. (Muhammad *et al*, 2019), a continuación, se inserta gráfico de los flavonoides y sus derivados.

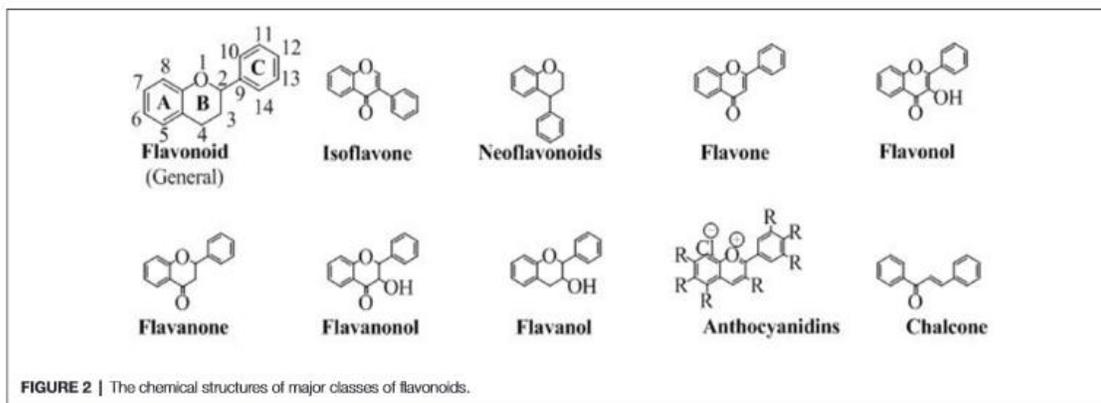


Figura 3. Estructura química de los flavonoides

Fuente. Muhammad et al., 2019

4.3 La Naringina y sus derivados

Se deriva su nombre del sanscrito “*naringi*” (naranja), considerada un elemento dietético, presente en muchos alimentos, pues se haya presente no tan solo en los cítricos sino también en Iso fríjoles, uvas, cacao, cerezas, tomates y orégano, toronja (*Citrus paradisi*), *Citrus sinensis*, *Citrus unshiu*, *Citrus nobilis*, *Citrus tachibana*, *Citrus junos*, *Artemisia selengensis*, *Artemisia stolonifera*, raíces de *Cudrania* lo que la lleva a ser identificada como un fitofármaco (Caccamese & Chillemi, 2010).

Su fórmula molecular es (C₂₇H₃₂O₁₄), al ser un glucósido de flavanona que existe principalmente en los frutos de la uva y el, cuyo peso molecular es de 580,4 g molG1 (Ting, Oman, & Jiannong, 2007).



Para la obtención de la naringina a partir de cítricos, se parte del fragmentado de cáscara fresca, secado en mitades enteras y posterior fragmentado en un procesador de alimentos hasta lograr fracciones de un tamaño de aproximadamente 0,2cm de diámetro. El secado se puede realizar ya sea a la intemperie con o sin exposición solar o en estufa a 45°C. Se realiza maceración con extracción a reflujo para lo cual se requiere 20 g de cascara de naranja en 100 ml de solvente (etanol). Cuando dichas maceraciones se realizan con cáscara seca, se utiliza el disolvente con agua en proporciones ya sea 70:30 o 50:50, hasta obtener una concentración del 45%, así se logra preparaciones mayores que cuando se maneja el etanol puro.

Giannuzzo et al, 2020, describe que “Posiblemente el agua es la que permite una mayor penetración del solvente a través de la membrana de las células, aumentando, además, la polaridad del mismo, logrando una mayor eficiencia de extracción”. (p:3).

Dicha extracción, también puede realizarse por maceración con y sin agitación y sometidas a ultrasonido, a temperatura ambiente de 25°C o a 40°C, durante dos horas, tal como lo describe Giannuzzo et al (2000).

Presenta una absorción del 95%, es detectable en plasma a las 5 horas posterior a su ingesta oral, es extremadamente lipofílica, junto a sus derivados (naringenina, naringenina glucurónico y sulfato de naringenina), su distribución es a todos los órganos, pero sus mejores concentraciones son en abdomen y las menores en cerebro (permeabilidad de la barrera hematoencefálica) y se concentra en el hígado (Liu et al, 2012).



Mata, 2012, deja claro que la naringina no es tóxica, por tanto, no se evidencian riesgos de impactos adversos, cuyo NOAEL, fue superior a 1250 mg / kg / día (Surampalli G, 2016; Alam, Badruddeen, Kumar, Akhtar, & Mohammad, 2020). Su eliminación de la naringina, es renal y hepática en alrededor de 64 µg a las 4 horas (Alam et al, 2020).

4.4 Efectos biológicos de la naringina

Entre los efectos biológicos de la naringina, se cuenta como antioxidante, antibacteriano, antihumoral, antiviral y actúa también a nivel del sistema nervioso, antiaterosclerótica y antitrombótica y vasodilatador, gracias a que mejora la vasodilatación coronaria, disminuye la capacidad de las plaquetas en coagulación y previene la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), actividad antiviral (sustentada contra el virus de herpes simple tipo 1 (HSV), virus para influenza tipo 3) (López, 2018). Efecto neuroprotector, en especial en casos neurodegenerativos por la modulación del estrés oxidativo y respuesta inflamatoria (Jung & Sang, 2014).

Efecto antigluceante, descrito por Jung et al, 2004, al reducir los niveles de glucosa en sangre, al disminuir la actividad de las enzimas hepáticas glucosa-6-fosfatasa, fosfoenolpiruvato carboxinasa y glucocinasa hepática (precursores de la gluconeogénesis); de igual manera un incremento de la concentración de glucógeno, insulina, péptico C y lectina. Sin embargo, el mecanismo por el cual este compuesto ocasiona tales regulaciones aún no está esclarecido.

La naringina logra ampliar la eficacia del sistema inmune al evitar patologías en órganos



o lesiones en tejidos gracias a las enzimas con actividad antioxidante como el superóxido dismutasa (SOD), el glutatión peroxidasa (GPX), la paraoxonasa (PON), entre otras (Mamdouh & Monira, 2004).

De igual manera, en varios estudios (Choe, 2001; Chanet, 2012) , han realizado metodologías in vivo y han descrito reducción de los niveles vasculares o sistémicos de quimiocinas, así como de moléculas inflamatorias y de adhesión, cuya expresión se halla estrechamente controlado por el factor proinflamatorio NF- κ B y que ejercen posibles acciones antiinflamatorias en varios tipos de células en la aterogénesis incluyendo células musculares del epitelio endotelial y liso al igual que en monocitos / macrófagos.

4.5 Estado del arte de actividad antimicrobiana de Naringina

Cada día acrecienta el número de estudios tendientes a la evaluación antimicrobiana de la naringina, inclusive para el control de las bacterias meticilinoresistentes (MRSA) , pudiendo hacer uso hasta de hierbas que al demostrar entre sus componentes la existencia de la molécula de naringina pueden ser una fuente alternativa de sustancias modificadoras de la resistencia y una alternativa para dicha amenaza mundial; tal es el caso de Gupta & Birdi, (2017), quienes motivadores hacia investigaciones tendientes a desarrollar nuevos modelos comerciales, hacen hincapié por los mecanismos involucrados en la lucha de la resistencia a muchos fármacos. (Gupta & Birdi, 2017). (More, Sathe, Sonawane, Jadhav, & Kadam, 2013).



Uysal et al., 2011, describieron la actividad antibacteriana contra las cepas de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *S. typhimurium*, *Serratia marcescens* y *Proteus vulgaris*, con zonas de inhibición desde 11 a 53 mm.45.

Y llama la atención que en el intento de buscar cuanta partícula presente efecto antimicrobiano, se han descubierto derivados o nuevos flavonoides que junto a los naturales (naringina y otros) genera sinergia, potenciando así las mencionadas propiedades que se añadan a las ya antioxidantes (Nijveldt et al, 2001), al protegerlo de las especies reactivas de oxígeno (ERO en español o ROS en inglés); anticáncer (Meiyanto *et al*, 2012; Hastuti et al., 2008), al mediante la unión de ATP en el sitio de unión de PI3K; antiinflamatorias (More et al, 2013), al inhibir la COX-2 y actuar como antioxidantes contra O₂ y hasta efecto antiviral , como actividad preventiva a una concentración de 168.2 µg/ml (López, 2018).

Ahora, frente a la eficacia de la naringina más pronunciada en bacterias Gram positivas que en las Gram negativas, llama la atención el estudio de Nikaido & Vaaram (1985), quienes describían que las bacterias Grampositivas, presentaban menor eficacia en la permeabilidad pues en su capa externa de una sola de peptidoglicano a diferencia de las gramnegativas, quienes cuentan con una membrana externa fosfolipídica, lo que probablemente les sirva de barrera diferencial frente a las anteriores.



4.6 Métodos de estudio de la sensibilidad antimicrobiana

Ante el sin número de agentes microbianos, se considera que aún la escogencia de una terapia antimicrobiana sigue siendo empírica, puesto que dichos agentes no han desarrollado resistencia contra los antibióticos; es aquí donde las pruebas de sensibilidad adquieren importancia para algunas especies bacterianas que no tienen sensibilidad predecible (Jorgensen & Sahn, 1995).

4.6.1 Dilución en caldo

Considerada la prueba más complicada porque puede probarse sólo una concentración del fármaco en cada tubo de ensayo. El caldo utilizado para tal fin es el Müller Hinton, el cual es el medio recomendado para las pruebas de sensibilidad de patógenos aeróbicos o facultativos de crecimiento rápido, el cual tiene bajo contenido de inhibidores de sulfonamidas, trimetoprima y tetraciclina y permite el crecimiento de la mayoría de los gérmenes patógenos. Además, se han acumulado un gran número de resultados y experiencias utilizando este medio para las pruebas de sensibilidad (Malbrán, 2012).



4.6.2 Dilución en agar

La técnica de difusión en agar, es considerada una prueba de sensibilidad cualitativa, cuyos resultados se pueden interpretar únicamente como sensible, intermedio o resistente, la cual se halla diseñada específicamente para bacterias de crecimiento rápido como los *Staphylococcus* sp. ó los integrantes de la familia *Enterobacteriaceae.*; donde el inóculo bacteriano se lleva a una concentración igual a la del estándar 0,5 de McFarlane, se aplica sobre la superficie de una placa seca de agar Müeller-Hinton que tenga un pH entre 7, 2 y 7,4 medido a ambiente y una vez solidificado el medio de cultivo, se debe llevar la cepa con un escobillon a manera de rayas sobre la superficie del medio, y se prosigue a los 15 minutos a la ubicación de los discos con el antibiótico, que no debe superar los 5 por caja de Petri de 100 mm de diámetro. Se procede a llevar a la incubadora a 35°C en aire ambiente y por un periodo no mayor a las 18 horas excepto para los aislamientos de *Staphylococcus* sp y *Enterococcus* sp, para los cuales se recomienda una incubación de 24 horas, principalmente para lograr una mejor detección de la resistencia a la oxacilina ya la vancomicina. Cada halo de inhibición es medido utilizando un calibrador o en su defecto una regla graduada en la forma adecuada, que donde no se presente un halo, no se debe reportar 0 mm, se debe reportar 6 mm, ya que ese es el diámetro del disco (Woods & Washington, 1995).



4.6.3 Difusión en disco

Se considera como el método de más uso y también se reconoce como la prueba de Kirby-Bauer, el cual es adecuado para los microorganismos de crecimiento rápido, el cual consta de la ubicación de discos impregnados con antibióticos en placas de agar inoculadas con el microorganismo que está probándose. Después de la incubación se mide la zona de inhibición que rodea a cada disco. Cada combinación de microorganismo-antibiótico tiene diámetros diferentes que implican que es S, I o R.



5 Metodología

5.1 Diseño de la investigación

Se realizó una revisión sistemática

5.2 Bases de información

La búsqueda bibliográfica se realizó en las siguientes bases electrónicas Pubmed, Scopus, ScienceDirect y Scielo.

5.3 Estrategia de búsqueda de literatura

Para la búsqueda se tuvo en cuenta las siguientes palabras clave: Naringina, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Candida albicans*.

Para cada palabra clave se buscaron los respectivos términos MeSH y DeCS fueron= Naringin, Naringenin, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Candida albicans*; cuya formulas sistemáticas de búsqueda, utilizada fue: "naringin" AND ("Staphylococcus aureus" OR "Streptococcus mutans" OR "Aggregatibacter actinomycetemcomitans" OR "Prevotella" OR "Candida albican" OR "Enterococcus faecalis" OR "Porphyromonas gingivalis").



5.4 Criterios de selección

Se definió como criterios de inclusión estudios experimentales *in vitro* sin restricción de fecha ni de idioma. Se aplicó como criterios de exclusión todo estudio realizado en animales o dientes, sin reporte de resultados en términos de concentración mínima inhibitoria (MIC), concentración mínima bactericida (MBC), zona de inhibición en mm (ZOI) o unidades formadoras de colonias (UFC); estudios con extractos de plantas en los que no se mencione naringina o no se haya identificado el porcentaje contenido de este bioflavonoide; y estudios en los que hayan reportado el efecto combinado naringina con otro compuesto sin evaluar naringina de forma individual.

5.5 Extracción de datos y análisis

Los dos autores del presente trabajo realizaron de forma independiente la búsqueda y la posterior selección por título y abstract. Posteriormente conforme aplicación de criterios de selección seleccionó los artículos a incluir en la revisión. La discordancia fue resuelta por un tercer evaluador (en este caso la directora de esta tesis). Los autores revisaron de forma independiente los datos artículos y extrajeron los datos. En este trabajo no se realizó la aplicación de un instrumento de valoración de calidad o verificación de sesgos.



Debido a la heterogeneidad presentada entre los estudios, por diferencias en el origen y forma de extracción de la naringina y las diferencias en las cepas utilizadas entre los estudios, no fue posible una síntesis cuantitativa y metaanálisis con los datos.

5.6 Análisis estadístico

Los datos se reportaron de forma cualitativa y algunos datos cuantitativos sin realizar análisis sobre ellos. La estructura de la revisión tuvo en cuenta la metodología PRISMA.

5.7 Consideraciones éticas

La presente investigación se rigió bajo la Resolución 8430 de 199,3 por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Teniendo en cuenta el Artículo 11, se clasifica en la categoría de INVESTIGACIÓN SIN RIESGO, por cuanto que para efectos del presente anteproyecto no se realizará en individuos humanos, así como tampoco se utilizará células o algún material biológico de origen humano. Por tal motivo, no se consideró su sometimiento ante Comité de Ética en investigación ante las entidades participantes



6 Resultados

6.1 Resultados del proceso de búsqueda y selección de artículos

El proceso de búsqueda en las bases electrónicas se presenta a continuación:

Tabla 1. Estrategia de búsqueda

Base de datos	Estrategia de Búsqueda	Resultados	Seleccionados Por título y resumen
ScienDirect	"naringin" AND ("Staphylococcus aureus" OR "Streptococcus mutans" OR "Aggregatibacter actinomycetemcomitans" OR "Prevotella" OR "Candida albican" OR "Enterococcus faecalis" OR "Porphyromonas gingivalis")	657	8
Pubmed	"naringin" [Supplementary Concept] AND ("Staphylococcus aureus"[Mesh] OR "Enterococcus faecalis"[Mesh] OR "Candida albicans"[Mesh] OR "Porphyromonas gingivalis"[Mesh] OR "Streptococcus mutans"[Mesh] OR "Aggregatibacter actinomycetemcomitans"[Mesh] OR "Prevotella intermedia/nigrescens"[Mesh])	6	5
Scielo	("Naringin") AND (("staphylococcus aureus")) OR (("streptococcus mutans")) OR (("Aggregatibacter actinomycetemcomitans")) OR (("prevotella")) OR (("candida")) OR (("Enterococcus faecalis")) OR (("porphyromonas gingivalis"))	16	0
Scopus	(TITLE-ABS-KEY ("naringin") AND TITLE-ABS-KEY ("Staphylococcus aureus") OR TITLE-ABS-KEY ("Streptococcus mutans") OR TITLE-ABS-KEY ("Prevotella") OR TITLE-ABS-KEY ("Aggregatibacter actinomycetemcomitans") OR TITLE-ABS-KEY ("Candida albicans") OR TITLE-ABS-KEY ("Enterococcus faecalis") OR TITLE-ABS-KEY ("Porphyromonas gingivalis")) AND (LIMIT-TO (DOCTYPE, "ar"))	59	12
Total		738	25

Fuente. Autores



La búsqueda arrojó un total de 738 estudios, de los cuales se descartaron 713 al realizar su selección por abstract, título y resumen. Posteriormente, 4 fueron eliminados por duplicidad en las bases electrónicas y 2 fueron excluidos por ser estudios realizados en animales. Otros 7 artículos fueron excluidos al presentar información de inhibición, pero relacionada a subproductos o modificaciones de la naringina o el efecto de naringina sobre la expresión de genes virulencia asociados a la formación de biopelículas y en cepas de pacientes multirresistentes. Algunos de estos estudios también reportaron efectos no relacionados a la actividad antimicrobiana. Finalmente, un total de 12 estudios fueron seleccionados para la fase de análisis y síntesis de la información. A continuación, se presenta el diagrama de flujo PRISMA (Fig. 1).

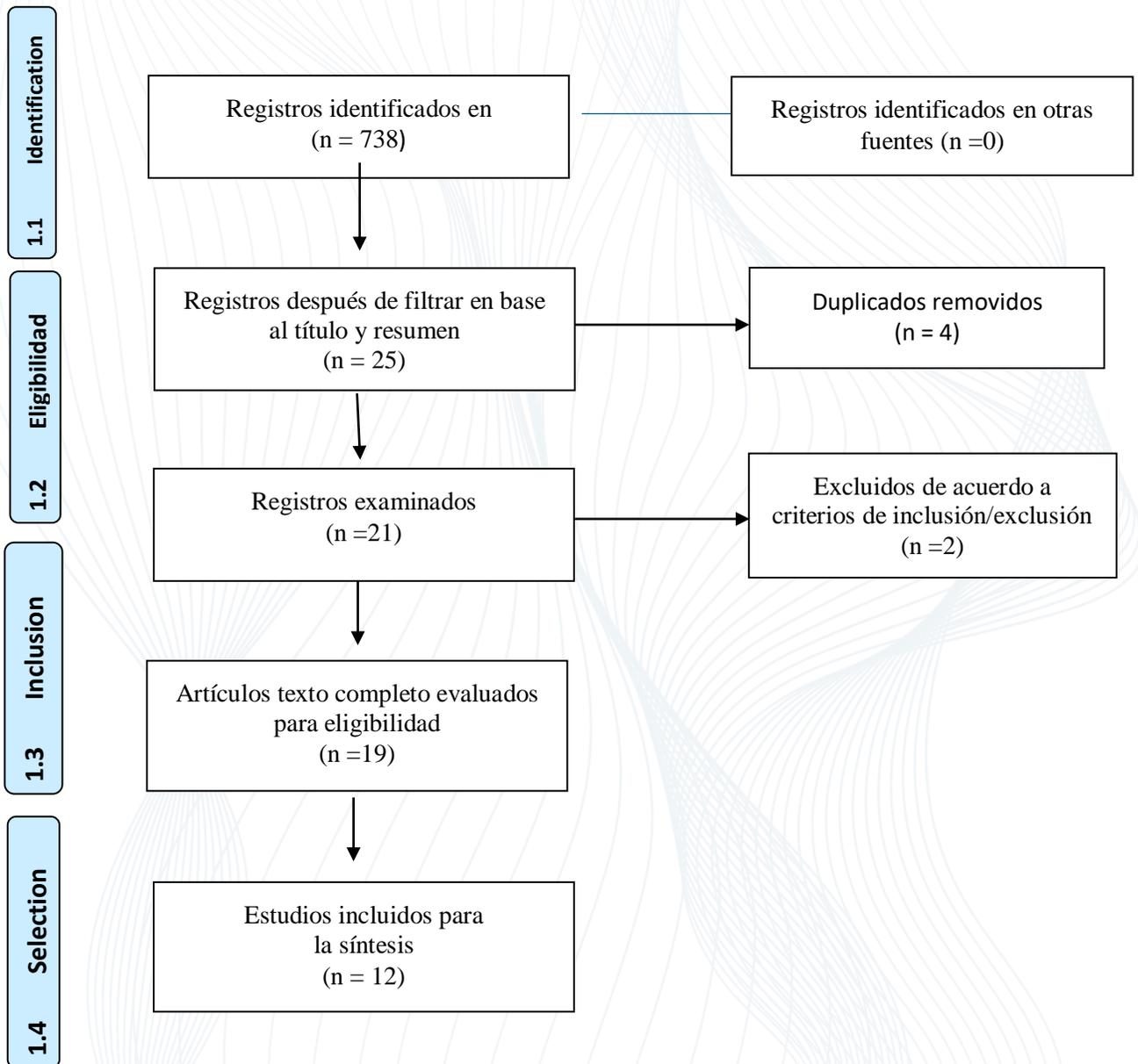


Figura 4. Diagrama de flujo PRISMA

Fuente. Autores



Para el análisis, se presenta a continuación la información desglosada de forma individual en tablas donde se presenta la actividad antimicrobiana de naringina reportada en la literatura frente a cada microorganismo odontopatógeno: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Prevotella spp*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Enterococcus faecalis*, *Porphyromonas gingivalis* y *Candida albicans*.

La naringina si bien es un bioflavonoide del tipo flavanona que se encuentra principalmente en las frutas cítricas (naranja, limón y pomelo), también está presente en muchas plantas, en las cuáles los estudios aquí analizados reportan su extracción o evaluación a través de extractos. Las plantas reportadas en los estudios, de las cuales se obtuvieron los extractos fueron: *Origanum majorana*, *Melissa officinalis*, *Anthemis cotula*, *Avena sativa*, inflorescencias de *Limonium avei*, semilla *Silybum marianum*, aceite de clavo, timol y regaliz, flores de *A. podalyriifolia*, el fruto de *P. macrocarpa* y la bergamota.

6.2 Actividad antimicrobiana de la naringina contra *Staphylococcus aureus*

Los resultados de naringina frente a *Staphylococcus aureus* demostraron que su acción bacteriostática en general es diversa. Algunos estudios reportan ausencia de actividad antimicrobiana (Céliz, Daz, & Audisio, 2011; Adamczak, 2019) y los demás evidencian actividad leve a moderada (ver tabla 2).

Tabla 2. Estudios de actividad inhibitoria de naringina contra *Staphylococcus aureus*

Autor	País	Cepa	Método	Concentración actividad antimicrobiana	Compuesto	Resultados
Adamczak, et al, (2019)	Polonia	ATCC 29213	Microdilución en caldo	>1000 µg / mL Control + 0,98 µg / mL	Nar (Sigma), en DMSO 20 %. Concentración final de 1 µg /mL y control (ciprofloxacino)	No mostró actividad
Jaradit et al, (2018)	Palestina	ATCC 25923	Microdilución en caldo	0.0625 µg / mL	3 derivados semisintéticos de Nar., en DMSO al 100%, concentración de 4 mg/ mL	Tiene muy buena actividad antimicrobiana
Aydeniz et al, (2018)	Italia	ATCC 29213	Difusión en agar	9,25 mm	Aceites prensados en frio de semillas de limón (Citrus limon), semillas de naranja (Agrios sinensis) y pomelo, que tienen un 15 % de Nar y 0,88 % de Nag.	Nar. Actividad antimicrobiana moderada
Aydeniz et al, (2018)	Italia	ATCC 25923	Difusión en agar	ZOI Nar 10,5 mm	Aceites prensados en frio de semillas de limón (Citrus limon), semillas de naranja (Agrios sinensis) y pomelo, que tienen un 15 % de Nar y 0,88 % de Nag.	Nar. Actividad antimicrobiana moderada
Aydeniz et al, (2018)	Italia	RSKK 1009	Difusión en agar	ZOI Nar 9,5 mm	Aceites prensados en frio de semillas de limón (Citrus limon), semillas de naranja (Agrios sinensis) y pomelo, que tienen un 15 % de Nar y 0,88 % de Nag.	Nar. Actividad antimicrobiana moderada
Aydeniz et al, (2018)	Italia	ATCC 6538P	Difusión en agar	ZOI Nar 13,5 mm	Aceites prensados en frio de semillas de limón (Citrus limon), semillas de naranja (Agrios sinensis) y pomelo, que tienen un 15 % de Nar y 0,88 % de Nag.	Nar. Actividad antimicrobiana moderada
Mandolani et al, (2007)	Inglaterra	FI10139	Microdilución	>1000 µg /mL ⁻¹	Nar. (27%), extraida de la Bergamota en EtOH al 70% v / v	Leve actividad y es bacteriostática
Hendra et al, (2011)	Malasya	No evidencia	Difusión en agar	15,3 mm pericarpio y 17,3 mm mesocarpio	Extracto etanólico al 95% de <i>P. macrocarpa</i> a una dosis de 0.3 mg/disco Nar. (5,6 %) mesocarpio y (20%) pericarpio.	Alta actividad antimicrobiana
Céliz et al, (2011)	Argentina	ATCC29213	Microdilución	0,25 mmol ⁻¹	Nar. extraida de desechos de la industria citrica, en DMSO (1%)	No presentan actividad antimicrobiana
Ozçelik et al, (2011)	Turquia	ATCC 25923	Microdilución	16 µg /mL ⁻¹	Nar., (Koch), en DMSO.	Mostró actividad antimicrobiana
Nostro et al, (2015)	Italia	ATCC 6538 P	Dilución en caldo	7.81 µg /mL ⁻¹ (Natural) y 15,62 µg /mL ⁻¹ (Invernadero)	<i>Inflorescencias de Limonium avei</i> propagadas en sitio natural e invernadero. Nar. (66,9%), en etanol al 95% a concentración de 200 mg mL ⁻¹	Actividad antimicrobiana pronunciada
Nostro et al, (2015)	Italia	ATCC 43300	Dilución en caldo	15,62 µg /mL ⁻¹ (Natural e invernadero)	<i>Inflorescencias de Limonium avei</i> propagadas en sitio natural e invernadero. Nar. (66,9%), en etanol al 95% a concentración de 200 mg mL ⁻¹	Actividad antimicrobiana pronunciada
Şener et al, (2017)	Turquia	ATCC 25923	Difusión en agar	6,5 mm	Extractos de <i>Origanum majorana</i> , <i>Melissa officinalis</i> , <i>Anthemis cotula</i> and <i>Avena sativa</i> en 65% etanol. <i>M. officinalis</i> > cantidad de Nar (99,7%)	<i>M. officinalis</i> No tiene actividad
Ghazy et al, (2021)	Egipto	ATCC 20231	Difusión en agar	11 mm (grano) y 13 mm (emulsión), 15 mm (control)	El extracto del grano de <i>Anise (Pimpinella anisum)</i> , contiene > cantidad de anetol (37%), naringenina (21%) y Penicilina G (Control)	Tiene actividad antimicrobiana

Fuente: Autores. S. *Staphylococcus*; Nar. Naringina; DMSO. Dimetilsulfóxido; ZI: Zona de inhibición; MIC: Concentración mínima inhibitoria; MBC: Concentración mínima bactericida



Como se puede observar, en los 10 estudios hallados en la literatura se reportan 14 experimentos en los que se evaluó actividad contra 7 cepas de este microorganismo (*ATCC 29213*, *ATCC25923*, *RSKK 1009*, *ATCC 6538P*, *F110139*, *ATCC 43300*, *ATCC 20231*), en el 42,8% de ellos naringina presenta actividad inhibitoria total, en el 35,8% una actividad moderada y en un 21,4 % no hubo acción inhibitoria.

El 50% de los estudios se realizaron por medio del método experimental de difusión en agar, en los cuales se observa una actividad inhibitoria satisfactoria con halos de inhibición entre 15,3 y 17,3 mm (Hendra et al, 2011), una actividad moderada con halos entre 9,25 y 13,5 mm (Aydeniz et al, 2018; Ghazya et al, 2021) y leve con halos de 6,5 mm del estudio de Şener et al, (2017).

La cepa más utilizada para evaluar la actividad de naringina contra *Staphylococcus aureus* fue la cepa *ATCC 25923*. De los cuatro estudios donde se utiliza esta cepa, se reporta actividad cuando la naringina se utiliza pura de origen comercial (Jaradat et al, 2018; Özçelik, Kartal, & Orhan, 2011), y cuando su obtención se realiza de extractos y aceites esenciales, parece no demostrar una buena actividad inhibitoria (Aydeniz, Demirel, & Yılmaz, 2018). Al parecer la cantidad de naringina en los extractos y aceites, que se encuentran entre un 15% a 66,9% (tal cual se puede apreciar en la columna de compuesto en la tabla 2), es un factor importante para potencial inhibitorio de este bioflavonoide.

Respecto a la concentración efectiva de la naringina contra el *Staphylococcus aureus* se puede decir que con concentraciones entre 0.0625 y 16 ug/mL en estado puro, se



puede obtener una acción inhibitoria dependiente de la concentración frente a este microorganismo.

6.3 Actividad antimicrobiana de la naringina contra *Streptococcus mutans*

Respecto al *Streptococcus mutans*, se halló un único estudio en el que se demuestra una efectiva actividad inhibitoria de la naringina en su estado puro de origen comercial, a una concentración más alta en el orden de los gramos (0,25 g/mL) a diferencia de la requerida contra *Staphylococcus aureus*.

Tabla 3. Estudios de actividad inhibitoria de naringina contra *Streptococcus mutans*.

Autor	País	Cepa	Método	Concentración actividad antimicrobiana	Compuesto	Resultados
Tsui <i>et al.</i> , (2008)	China	ATCC356 68,	Dilución en caldo	0,25 g / mL	Naringina (Sigma), en agua destilada a concentraciones (0,25 g / ml, 0,1 g / ml y 0,0625 g / ml)	Significativo efecto inhibitor a las 24 horas

Fuente: Autores. *S. Staphylococcus*; **Nar.** Naringina; **DMSO.** Dimetilsulfóxido; **ZOI:** Zona de inhibición; **MIC:** Concentración mínima inhibitoria; **MBC:** Concentración mínima bactericida



6.4 Actividad antimicrobiana de la naringina contra *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Contra *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, se hallaron dos estudios (tabla 3), también con naringina de pureza comercial al 95 % y en el que también se demuestra que naringina tiene actividad inhibitoria a una concentración mínima de 0,73 µg/mL.

Tabla 4. Estudios de actividad inhibitoria de naringina contra *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Autor	País	Cepa	Método	Concentración actividad antimicrobiana	Compuesto	Resultados
Tsui <i>et al.</i> , (2008)	China	ATCC33277	Dilución en caldo	0,25 g/mL	Naringina (Sigma), en agua destilada a concentraciones (0,25 g / ml, 0,1 g / ml y 0,0625 g / ml)	Efecto inhibitor marcado sobre el crecimiento
Gutiérrez <i>et al.</i> , (2019)	México	ATCC 43718	Difusión en agar	0,73 µg / mL, sin reporte de ZOI	Nar (95%), (Sigma), en DMSO - 100 µM, a partir de 30 mg /mL.	Actividad antimicrobiana

Fuente: Autores. *S. Staphylococcus*; **Nar.** Naringina; **DMSO.** Dimetilsulfóxido; ZOI: Zona de inhibición; **MIC:** Concentración mínima inhibitoria

6.5 Actividad antimicrobiana de la naringina contra *Enterococcus faecalis*

Los resultados evidencian que se encuentra actividad inhibitoria bastante diversa, aun utilizando naringina de origen comercial frente a la misma cepa ATCC 29212 utilizada en dos de los tres estudios hallados (Özçelik *et al.*, 2011; Adamczak *et al.*, (2019)). Una



concentración de 8 $\mu\text{g} / \text{mL}$ sería la concentración mínima a requerir frente a *Enterococcus faecalis*, que también concuerda con el rango de actividad en microgramos frente a *Staphylococcus aureus*.

Tabla 5. Estudios de actividad inhibitoria de naringina contra *Enterococcus faecalis*

Autor	País	Cepa	Método	Concentración actividad antimicrobiana	Compuesto	Resultados
Adamczak <i>et al</i> , (2019)	Polonia	ATCC 29212	Microdilucion	1000 $\mu\text{g} / \text{mL}$ Control + 0,98 $\mu\text{g} / \text{mL}$	Nar.95%(Sigma) en concentración final de 1 $\mu\text{g} / \text{mL}$ y control + (ciprofloxacino)	Leve actividad antimicrobiana
Gutiérrez <i>et al</i> , (2019)	México	ATCC 8043	Difusión en agar	0,87 $\mu\text{g} / \text{mL}$ Control 0,1 $\mu\text{g} / \text{mL}$	Nar.95% (Sigma), en concentración final 100 μM a partir de 1 mg / mL ($5,1 \times 10^{-2}$ M) y control (ampicilina)	Leve Actividad antimicrobiana
Özçelik <i>et al</i> , (2011)	Turquía	ATCC 29212	Microdilucion	8 $\mu\text{g} / \text{mL}^{-1}$	Nar., (Koch), en DMSO a 256 $\mu\text{g ml}^{-1}$	Muy alta actividad antimicrobiana

Fuente: Autores. **Nar.** Naringina; **DMSO.** Dimetilsulfóxido; **ZI:** Zona de inhibición; **MIC:** Concentración mínima inhibitoria.

6.6 Actividad antimicrobiana de la naringina contra *Porphyromonas gingivalis*

Un único estudio evalúa actividad frente a este patógeno oral, para el cual demuestra una fuerte actividad inhibitoria a una concentración en el orden de los gramos.



Tabla 6. Estudios de actividad inhibitoria de naringina contra *Porphyromonas gingivalis*

Autor	País	Cepa	Método	Concentración actividad antimicrobiana	Compuesto	Resultado
Tsui <i>et al</i> , (2008)	China	ATCC33277	Dilución en caldo	MIC=0,0625 g/mL MBC=0,1g/mL	naringina (Sigma), en agua destilada a concentraciones (0,25 g / ml, 0,1 g / ml y 0,0625 g / ml)	Efecto inhibitor y bacteriostático posterior a 3horas de acción

Fuente: Autores.

6.7 Actividad antimicrobiana de la naringina contra *Candida albicans*

Es el segundo microorganismo de importancia en patología oral con mayor número de evaluaciones de actividad de naringina como agente inhibitor. Los estudios muestran que el compuesto de origen comercial evidencia mejores resultados.

Cuatro estudios analizaron la misma cepa *ATCC 10231* y si bien existe como en los demás estudios grandes divergencias metodológicas, se puede decir que una concentración efectiva de la naringina contra *Candida albicans* está en el orden de los microgramos a una concentración inhibitoria mínima observada de 0.98 µg / mL.



Tabla 7. Estudios de actividad inhibitoria de naringina contra *Candida albicans*

Autor	País	Cepa	Método	Concentración actividad antimicrobiana	Compuesto	Resultado
Aydeniz <i>et al.</i> (2018)	Italia	ATCC 10231	Difusión en agar	7,5 mm	Aceites prensados en frío de semillas de limón (<i>Citrus limon</i>), naranja semillas (<i>Agrios sinensis</i>), y pomelo, 15 % de Nar.	Bajo efecto inhibitor
Tsui <i>et al.</i> (2008)	China	ATCC 90028	Dilución en caldo	0.098 µg / mL	Nar.95% (Sigma), a concentraciones (0,25 g / ml, 0,1 g / ml y 0,0625 g / ml)	Alto efecto inhibitor
Gutiérrez <i>et al.</i> (2019)	México	ATCC 10231	difusión en agar	1,4 µg / mL	Nar.95% (Sigma) a 100 µM	Bajo efecto inhibitor
Özçelik <i>et al.</i> (2011)	Turquía	ATCC 10231	Microdilución	8 µg/ml ⁻¹	Nar.(Koch), en DMSO al 256 µg ml ⁻¹	Moderado efecto inhibitor
Nostro <i>et al.</i> (2015)	Italia	ATCC 10231.	Dilución de caldo	4000 µg /ml ⁻¹ (Natural e invernadero) MBC > 4000 4000 µg /ml ⁻¹	Extracto etanólico al 95% de <i>Inflorescencias de Limonium avei</i> en sitio natural e invernadero. Nar. (66,9%) a concentración de 200 mg/ mL	Bajo efecto inhibitor
Şener <i>et al.</i> (2017)	Turquía	DSMZ 1386	Difusión en agar	8 mm	<i>Extractos al 65% etanol de M. officinalis- naringina (99,7%)</i>	Leve efecto inhibitor

Fuente: Autores.; **Nar.** Naringina; **DMSO**: Dimetilsulfóxido; **MBC**: Concentración mínima bactericida.

En la tabla 7 se resume las concentraciones mínimas inhibitorias frente a cada microorganismo. Se puede evidenciar que se requiere de mayores concentraciones de naringina frente a patógenos Gramnegativos como *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans* y frente a Grampositivos como *S. mutans*.



Tabla 8. Resumen de concentraciones mínimas inhibitorias de naringina frente a principales odontopatógenos

Microorganismo	Gram	Mínima Dilución Inhibición
<i>Staphylococcus aureus</i>	Grampositivo	16 µg / mL
<i>Streptococcus mutans</i>	Grampositivo	0,25 g / mL
<i>Enterococcus faecalis</i>	Grampositivo	8 µg /mL
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Gramnegativo	0,1 g/ mL
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	Gramnegativo	0,25 g / mL
<i>Candida albicans</i>	Levadura	0.098 µg / mL

Fuente. Autores



7 Discusión

En esta revisión sistemática de estudios in vitro, donde los investigadores analizan la actividad antimicrobiana de la naringina frente a patógenos de la cavidad oral, se halló que la naringina posee un significativo efecto inhibitorio frente a todos los patógenos de la cavidad oral e incluso bactericida frente a *Porphyromonas gingivalis*.

Se observó que dichos efectos inhibitorios son diversos y que su variabilidad podría atribuirse a la gran heterogeneidad de factores y condiciones de evaluación entre los diferentes estudios, entre los cuales se cuentan la técnica o método utilizado ya sea dilución en agar, difusión en disco o microdilución en caldo, origen de la naringina (natural como extracto o comercial). De igual manera podría considerarse entre factores de variabilidad, el tipo de análisis en consideración a que algunos realizaron muchos ejercicios metodológicos para soportar la sensibilidad antimicrobiana del flavonoide que no permitía valorar los datos precisos de las concentraciones de la naringina contra el patógeno, como el estudio de Gutiérrez et al, (2019), donde la información fue presentada en medias, lo que dificultó su análisis.

Celiz et al, 2011, contempla que el origen y pureza de la naringina, que a menudo son obtenidos de extractos de plantas o en su defecto por adquisición comercial, conlleva a presentar variabilidad de los efectos inhibitorios. Sin embargo, quedó evidenciado que La naringina está presente en una gran variedad de frutos, flores y partes de plantas y en diferentes cantidades, como los aquí hallados: cítricos (naranja, limón y pomelo), de



Origanum majorana, Melissa officinalis, Anthemis cotula, Avena sativa, inflorescencias de Limonium avei, semilla Silybum marianum, aceite de clavo, timol y regaliz, de las flores de A. podalyriifolia, el fruto P macrocarpa y la bergamota; cuyo contenido es variable y dependiente también de la eficiencia de extracción (Bruneton, 1999).

Otro aspecto interesante como factor de variabilidad y no menos importante es el tipo de disolvente para los compuestos puros y es que en algunos de los estudios utilizaron el DMSO (Adamczak et al, 2019; Jaradat et al, 2018; Özçelik et al, 2011 y Celiz et al, 2011), y en etanol (Nostro et al, 2015 y Şener et al, 2017), en diferentes concentraciones, lo que podría llevar a variar la actividad antimicrobiana.

Otros factores a considerar son el método microbiológico utilizado, las cepas de cada microorganismo evaluado e incluso otros factores no bien descritos como el inóculo bacteriano, tal como lo contempla el Comité Nacional para estándares de laboratorio clínico (NCCLS) (Cavalieri, Stephen. PAHO, 2005).

Respecto al desempeño diferencial frente a Gram positivos y Gram negativos, otros autores describen que es mayor el efecto hacia patógenos Grampositivos (Othman, 2003); sin embargo, conforme los hallazgos de esta revisión pudrían decirse que las características de la pared bacteriana condicionan su efectividad y por tanto los Gramnegativos como la Porphyromonas gingivalis y Aggregatibacter actinomycetemcomitans requieren de una mayor concentración.



La citotoxicidad de la naringina, aunque poco evidenciada en los estudios incluidos, solo Özçelik, 2011, la evaluó en líneas celulares Madin-Darby de riñón bovino (MDBK) y Vero (riñón de mono verde africano); expresada como concentración máxima no tóxica (MNTC), de la cual para naringina fue de $3,2 \mu\text{g ml}^{-1}$, lo que permite evidenciar la baja toxicidad de la naringina (MIC = $1,6 \mu\text{g ml}$), inclusive Skibola, 2000, dejó claro en su estudio, que la citotoxicidad fisiológicamente no es alcanzable a través de la dieta, sin embargo con la adición de suplementos, particularmente las fórmulas antioxidantes y las mezclas de hierbas, en dosis de gramos en lugar de miligramos, si podrían llevar a niveles tóxicos (Skibola & Smith, 2000).



8 Conclusiones

De acuerdo a la revisión de datos de literatura de estudios primarios de actividad antimicrobiana de naringina frente a patógenos de importancia en la cavidad oral, se puede concluir que:

- Naringina tiene un efecto bacteriostático *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *E. faecalis*, y *Candida albicans*.
- Naringina presenta efecto bacteriostático a altas concentraciones frente a *Porphyromonas gingivalis*
- Representa un atractivo potencial como principio activo para el desarrollo de productos que puedan prevenir la patología infecciosa oral.



Bibliografía

- Adamczak, A. O. (2019). Actividad antibacteriana de algunos flavonoides y ácidos orgánicos ampliamente distribuidos en plantas. . *Revista de medicina clínica* , 9(1), 109. doi:<https://doi.org/10.3390/jcm9010109>
- Alam, F., Badruddeen, Kumar, A., Akhtar, J., & Mohammad, I. (2020). Naringin: Sources, Chemistry, Toxicity, Pharmacokinetics, Pharmacological Evidences, Molecular Docking and Cell line Study. *Research J. Pharm. and Tech*, 2507-2515. doi:10.5958/0974-360X.2020.00447.3
- Alghamdi, F. &. (2020). The Influence of Enterococcus faecalis as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review. . *Cureus* , 12(3), e7257. doi:<https://doi.org/10.7759/cureus.7257>
- Astorga, B., Barraza, C., Casals, J., Cisterna, M., Mena, D., Morales, F., . . . Moncada, G. (diciembre de 2015). Avances en el Estudio de la Diversidad Bacteriana Oral Asociada a Caries Dental Mediante el Estudio Genómico. *Int. J. Odontostomat*, 9(3), 349-356. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2015000300002>
- Aydeniz, B., Demirel, N., & Yilmaz, E. (2018). Antimicrobial activity of cold pressed citrus seeds oils, some citrus flavonoids and phenolic acids. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 95 (2), 119-131. Obtenido de



https://www.researchgate.net/publication/326030204_Antimicrobial_activity_of_cold_pressed_citrus_seeds_oils_some_citrus_flavonoids_and_phenolic_acids/citations

BA., D. (2002). Periodontal epithelium: a newly recognized role in health and disease.

Periodontol, 30, 70-78. Obtenido de

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1034/j.1600-0757.2002.03007.x>

Balandrano, F. (2007). Soluciones para irrigación en endodoncia: hipoclorito de sodio y

gluconato de clorhexidina . *Rev CCDCR*, 1(3), 11-14. Obtenido de

<https://www.redalyc.org/pdf/3242/324227906004.pdf>

Botta, B., Vitali, A., Menendez, P., Misiti, D., & Delle Monache, L. (2005). Prenylated

flavonoids: pharmacology and biotechnology. *Current Medicinal Chemistry*, 12,

713-739. . doi:10.2174 / 0929867053202241

Bruneton, J. e. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Paris: Tec &

Doc., Eds. Lavoisier.

Caccamese, S., & Chillemi, R. (2010). Racemization at C-Z of naringin in Pummela (citrus

grandis) with increasing maturity determined by chiral high performance liquid

chromatography. *Journal of Chromatography*, 1217, 1089-1093.

Carrero, C., González, M., Martínez, M., Serna, F., & Díez, H. &. (2015). Baja frecuencia

de enterococcus faecalis en mucosa oral de sujetos que acude. *Revista Facultad de*

Odontología Universidad de Antioquia , 26(2), 261-270. Obtenido de



http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-246X2015000100003&lng=en&tlng=e

Castilla, R., Mora, A., Rueda, I., & Villabona, F. &. (2018). *USTA*. Recuperado el 25 de agosto de 2021, de Prevalencia de la enfermedad periodontal en pacientes de la clínica odontológica de la Universidad Santo Tomás, año 2015:
<https://repository.usta.edu.co/bitstream/handle/11634/12839/2018andrymoraingridrueda.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Cavalieri, Stephen. PAHO. (2005). *Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana*. Library of Congress Cataloging-i. Obtenido de
<https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas-2005.pdf>

Céliz, G., Daz, M., & Audisio, C. (septiembre de 2011). Antibacterial activity of naringin derivatives against pathogenic strains. *J. of Applied Microbiology*, 111(Issue3), 731-738. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05070.x>

Chaffin, W. (2008). *Candida albicans* cell wall proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 72(3), 495–544. doi:10.1128/MMBR.00032-07

Chanet, A. M. (2012). Citrus flavanones: what is their role in cardiovascular protection? . *Journal of agricultural and food chemistry* , 60 (36), 8809–8822.
doi:<https://doi.org/10.1021/jf300669s>



- Chen, R., Ling Qi, Q., Ling Wang, M., & Li, Q. (2016). Therapeutic potential of naringin: an overview. *Biología farmacéutica*, 54(12), 3203-3210.
doi:<https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1216131>
- Choe, S., Kim, H. S., Jeong, T. S., Bok, S. H., & Park, Y. B. (2001). Naringin has an antiatherogenic effect with the inhibition of intercellular adhesion molecule-1 in hypercholesterolemic rabbits. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 39, 947-955.
- Corredor, C., & Torres, A. (2009). *Pontificia Uiversidad Javeriana*. Obtenido de Microbiología de las lesiones pulpares:
<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8236/tesis229.pdf>
- Cruz, E. M. (2015). Antibióticos vs. resistencia bacteriana. *Rev. electron. Zoilo*, 40(2).
Obtenido de <http://revzoilomarinaldo.sld.cu/index.php/zmv/article/view/95>
- Cruz, S., Sjostrom, P., Socarrás, D., Marlene, I., & BaldeónI, M. (ene.-mar. de 2017). Microbiota of oral cavity ecosystems. *Rev Cubana Estomatol* , 54(1), 84-99.
- Deo, P. N. (2019). Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. . *Journal of oral and maxillofacial pathology : JOMFP*, 23(1), 122-128.
doi:https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_304_18
- Dey, P., Parai, D., Banerjee, M., Hossain, S. T., & Mukherjee, S. K. (abril de 2020). La naringina sensibiliza el efecto antibiofilm de la ciprofloxacina y la tetraciclina contra la biopelícula de *Pseudomonas aeruginosa*. *International journal of medical microbiology*, 310(3), 151410. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2020.151410>



Díaz, M., Rodríguez, C., & Zhurbenko, R. (2010). Aspectos fundamentales sobre el género

Enterococcus como patógeno de elevada importancia en la actualidad. *Revista*

Cubana de Higiene y Epidemiología, 147-161. Obtenido de

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-

[30032010000200006&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032010000200006&lng=es&tlng=es)

Fariñasa, M. &. (2007). Enterococo ¿un patógeno emergente en nuestros hospitales? 25(8),

500-2. Obtenido de *Enferm Infecc Microbiol Clin*:

<https://www.elsevier.es/index.php?p=revista&pRevista=pdf-simple&pii=13109985>

Fejerskov, O., & Thylstrup, A. (Textbook of clinical cariology). Different concepts of

dental caries and their implications.

Gajan, E., Aghazadeh, M., Abashov, R., Salem, A., & Moosavi, Z. (16 de marzo de 2009).

Microbial Flora of Root Canals of Pulpally-infected Teeth: *Enterococcus faecalis* a

Prevalent Species. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospectos.* , 3(1), 24-27. doi:

10.5681 / joddd.2009.007

García, T., Castillo, A., & Salazar, D. (ene.-mar de 2014). Mechanisms of resistance to

beta-lactams in Gram-negative bacteria. *Rev Cubana Salud Pública vol.40 no.1*

Ciudad de La Habana ene.-mar. 2014, 40(1), 129-135. Obtenido de

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662014000100013

GBD. (2018). Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional,

and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases



and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analy. *Lancet* , 392(10159), 1789–1858. doi:[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32279-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32279-7)

Ghazya, O., Fouadb, M., Saleh, .., Kholif, A., & Morsy, T. (30 de marzo de 2021).

Ultrasound-assisted preparation of anise extract nanoemulsion and its bioactivity against different pathogenic bacteria. *Food Chemistry*, 341(Part 2), 7.

doi:10.1016/j.foodchem.2020.128259

Giannuzzo, A., Nazareno, M., Mishima, H., & López, B. (agosto de 2000). Extracción de

naringina de *Citrus paradisi* L. estudio comparativo y optimización de técnicas extractivas. *Food Sci. Technol*, 20(2). doi:[https://doi.org/10.1590/S0101-](https://doi.org/10.1590/S0101-20612000000200022)

20612000000200022

Górniak, I. B. (2019). Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids.

. *Phytochem Rev* , 18, 241–272. doi:<https://doi.org/10.1007/s11101-018-9591-z>

Guilarte, C. (mayo de 2005). Bacterias Periodontopatógenas: Bacilos Anaerobios gran

negativos como agentes Etiológicos de la Enfermedad Periodontal. *Acta odontol.*

venez, 43(2). Obtenido de

http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652005000200017

Gupta, P., & Birdi, T. (30 de agosto de 2017). Desarrollo de botánicos para combatir la

resistencia a los antibióticos. *J. Ayur. Integr. Medicina.*, 8(4), 266-275. doi:10.1016

/j.jaim.2017.05.004.



Gutiérrez, G., Gómez, J., Meraz, M., Flores, M., & Ortiz, L. (December de 2019). Effect of flavonoids on antimicrobial activity of microorganisms present in dental plaque.

Heliyon, 5(Issue 12), e03013. doi:<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e03013>

Hanasaki, Y., Ogawa, S., & Fukui, S. (1994). The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radic. Biol. Med.*, 16, 845-50. doi:10.1016/0891-5849(94)90202.

Hastuti, N., Pratiwi, D., & Armandari, I. (2008). Ekstrak Etanolik Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantiifolia* (Cristm.) Swingle) Menginduksi Apoptosis Pada sel Payudara Tikus Galur Sprague Dawley Terinduksi 7,12- Dimetilbenz[a]antrasena, Proceeding, Kongres Ilmiah XVI. *Ikatan Sarjana Farmasi*, 94-99.

Hendra, R. A. (2011). Flavonoid analyses and antimicrobial activity of various parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl fruit. *International journal of molecular sciences*, 12(6), 3422–3431. doi:Hendra, R., Ahmad, S., Sukari, A., Shukor, M. Y., & Oskoueian, E. (2011). Flavonoid analyses and antimicrobial activity of various parts of *Phaleria macrocarpa*[https://doi: 10.3390/ijms12063422](https://doi:10.3390/ijms12063422)

Hernandez, L. (2020). *Naringenina como alternativa para mejorar la fuerza de adhesión de los sistemas adhesivos para acondicionamiento dentario*. Puebla- mexico.

Obtenido de file:///D:/Users/Usuario/Downloads/20201005113058-5157-T.pdf



Ignacio, J. (diciembre de 2015). Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global.

Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 33(10), 692-699. doi:DOI:

10.1016/j.eimc.2014.10.004

Jaradat, N., Shawarb, N., Hussein, F., Al-Masri, M., Warad, I., Khasati, A., . . .

Makhamreh, S. (2018). Antibacterial and Antioxidant Screening of Semi-Synthetic

Naringin Based Hydrazone and Oxime Derivatives. *Jundishapur J Microbiol*,

11(6), e65496. doi:10.5812/jjm.65496.

Jorgensen, J., & Sahm, D. (1995). Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana:

consideraciones generales. En: Manual de Microbiología Clínica. Washington DC:

Eds: Murray P., Baron E., Pfaller M et al Sociedad Americana de Microbiología.

Jung, U., & Sang, R. (2014). Effects of Naringin, a Flavanone Glycoside in Grapefruits and

Citrus Fruits, on the Nigrostriatal Dopaminergic Projection in the Adult Brain.

Neural Regeneration Research., 9(16), 1514–1517.

Jung, U., Lee, M., Jeong, K., & Choi, M. (2004). Los efectos hipoglucémicos de la

hesperidina y la naringina están mediados en parte por enzimas reguladoras de

glucosa hepática en ratones C57BL / KsJ-db / db. *J Nutr.*(22), 2499.

Kim, D., Jung, E., Sohng, I., Han, J., Kim, T., & MJ., H. (1998). Intestinal bacterial

metabolism of flavonoids and its relation to some biological activities. *Arch Pharm*

Res., 21, 17-23.



- Lebreton, F., Willems, J., & Gilmore, M. (2 de febrero de 2014). Enterococcus Diversity, Origins in Nature, and Gut Colonization. En C. D. Gilmore MS, & Editores. (Ed.), *Enterococos: de los comensales a las principales causas de infecciones resistentes a los fármacos [Internet]*. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190427/>
- Liu, M., Zou, W., Yang, C., Peng, W., & Su, W. (2012). Estudios de metabolismo y excreción de naringina administrada por vía oral, un antitusivo putativo, en ratas y perros. . *Eliminación de medicamentos biofarmacéuticos.*, 123-134.
- López, S. (2 de febrero de 2018). *Uniiversidad de Murcia*. Obtenido de Naringina y sus Efectos a Nivel Densitométrico sobre la Regeneración Guiada con Extracto de Uva y Colágeno de Origen Porcino. Estudio en Modelo Experimental con Conejos Albinos de Nueva Zelanda: <https://digitum.um.es/digitum/handle/10201/55775>
- Malbrán, ., C. (enero de 2012). Metodo de dterminacion de sensibilidad antimicrobiana por dilucion. *Srrvicio Antimicrobiano INEI*, 32(2). Obtenido de <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf>
- Mamdouh, M., & Monira, A. (2004). The Influence of Naringin on the Oxidative State of Rats with Streptozotocin Induced Acute Hyperglycemia. *J. Chem. Sci.*, 59((9-10)), 726-33. doi:10.1515/znc-2004-9-1018



- Mandalari, G. B. (2007). Antimicrobial activity of flavonoids extracted from bergamot (Citrus bergamia Risso) peel, a byproduct of the essential oil industry. *Journal of applied microbiology*, 103(6), 2056–2064. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03456.x>
- Manson, J., Rauch, M., & Gilmore, M. (2008). The commensal microbiology of the gastrointestinal tract. *Advances in Experimental Medicine and Biology.*, 635, 15–28. doi:doi: 10.1007/978-0-387-09550-9_2
- Mata, M., Lacueva, A., & Roura, E. (2007). Absorption and pharmacokinetics of grapefruit flavanones in beagles. *Br J Nutr.*, 98, 86-92.
- Meiyanto, E., & Hermawan, A. (s.f.). Natural Products for Cancer-Targeted Therapy: Citrus Flavonoids as Potent Chemopreventive Agents. *Asian Pacific J Cancer Prev.*, 13, 427-436. doi:<http://dx.doi.org/10.7314/APJCP.2012.13.2.427>
- Meiyanto, E., Hermawan, A., & Anindyajati. (2012). Natural Products for Cancer-Targeted Therapy: Citrus Flavonoids as Potent Chemopreventive AgentsAsian Pac. *J Cancer Prev*, 13(2). doi:10.7314/APJCP.2012.13.2.427.
- Morales, J., Gómez, N., Rovira, J., & Abrahams, M. (2007). Actividad larvica de la toronja, Citrus paradisi (Rutaceae) sobre dos vectores del dengue. . *Rev Peru biol.*, 14(2). Obtenido de <http://sisbib.unmsm.edu.pe/>
- More, S., Sathe, S., Sonawane, A., Jadhav, A., & Kadam, V. (2013). Citrus paradisi: an overview. *IAJPR.*, 3(10), 8070-8077.



Muhammad, A., Abdul, S., Muhammad, J., Farhat, U., Muhammad, O., Ikram, U., . . .

Muhammad, S. (26 de junio de 2019). Flavonoids as Prospective Neuroprotectants and Their Therapeutic Propensity in Aging Associated Neurological Disorders.

Aging Neurosci. , 11, 155. doi:<https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00155>

Nijveldt, R., Nood, E., Van, H., Boelens, P., & Van, N. K. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr.*, 74(4), 418-25.

Nikaido, H., & Vaara, M. (1985). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbiological reviews*, 49(1), 1–32.

doi:<https://doi.org/10.1128/mr.49.1.1-32.1985>

Nostro, A., Filocamo, A., Giovannini, A., Catania, S., Costa, C., Marino, A., & Bisignano, G. (21 de octubre). Antimicrobial activity and phenolic content of natural site and micropropagated *Limonium avei* (De Not.) Brullo & Erben plant extracts. *Natural Product Research* , 26(Issue 2). doi:<https://doi.org/10.1080/14786419.2011.628669>

OMS. (25 de marzo de 2020). *Salud Bucodental*. Obtenido de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>

Ortega, L. (oct.-nov de 2010). Enterococcus infection: Update. *Rev haban cienc méd*, 9(4), 507-515. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2010000400010



Othman, F. (2003). Constituyentes químicos y actividades biológicas de los flavonoides de extractos de Pegaga (*Centella asiática*, Linn. Urban) cultivados hidropónicamente.

Universiti Putra Malaysia; Serdang, 25. Obtenido de

<https://core.ac.uk/download/pdf/42999188.pdf>

Özçelik, B., Kartal, M., & Orhan, I. (2011). Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids. *Pharmaceutical Biology*, 49(4), 396-402. doi:10.3109/13880209.2010.519390T

Pang, W., Wang, X., Mok, S., Lai, W., Chow, H., Leung, P., . . . Wong, M. (2010). Naringin improves bone properties in ovariectomized mice and exerts oestrogen-like activities in rat osteoblast-like (UMR-106) cells. *Br J Pharmacol*, 159(8), 1693-1703. doi:10.1111 / j.1476-5381.2010.00664.x.

Pardi, G., Guilarte, C., Cardozo, E., & Briceño, E. (2009). Detección de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el tratamiento. *Act Odontol Venezolana 2009*, 47(1). Obtenido de <https://www.actaodontologica.com/ediciones/2009/1/art-12/>

Pava, T. (2016). *Pontificia Universidad Javeriana*. Obtenido de Actividad Antimicrobiana de extractos de *Allium sativum* Y *Zingiber officinale* sobre microorganismos de importancia en patologías infecciosas de cavidad oral:
<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/20405/PavaAngelTatiana2016%20%281%29.pdf?sequence=3&isAllowed=y>



- Peniche, E., & Garza, R. (1991). El Proceso Infeectivo. *Universidad Nacional Autónoma de Mexico*, 2(2). doi: <http://dx.doi.org/10.22201/fq.18708404e.1991.2.66955>
- Pérez-Cano, F. J. (2016). Flavonoids, Inflammation and Immune System. *Nutrients*, 8(10), 659. doi:<https://doi.org/10.3390/nu8100659>
- Peterson, J. . (2006). Flavanonas en pomelos, limones y limas: una recopilación y revisión de los datos de la literatura analítica. *J Food Compost Anal*, 19, S74 - S80.
- Porter, S., Scully, C., & Pedersen, A. (1998). Estomatitis aftosa recurrente. *Crit Rev Oral Biol Med.*, 9, 306 - 321. Obtenido de <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/10454411980090030401>
- Rawat, D., & Nair, D. (2010). Extended-spectrum β -lactamases in Gram Negative Bacteria. *J Glob Infect Dis.*, 2(3), 263-74. doi:10.4103 / 0974-777X.68531
- Růžicková, M., Vítězová, M., & Kushkevych, I. (3 de abril de 2020). The Characterization of Enterococcus Genus: Resistance Mechanisms and Inflammatory Bowel Disease. *Open medicine* , 15, 211–224. doi:<https://doi.org/10.1515/med-2020-0032>
- Sanchez, B., Lopez, J., Salas, E., & al., e. (2015). Glycated hemoglobin levels and prevalence of apical periodontitis in type 2 diabetic patients. *J Endod*, 41, 601–6. doi:10.1016 / j.joen.2014.12.024
- Schloissnig, S., Arumugam, M., Sunagawa, S., Mitreva, M., Tap, J., Zhu, A., . . . al., e. (5 de diciembre de 2013). Genomic variation landscape of the human gut microbiome. *Nature.*, 493, 45–50. doi:<https://doi.org/10.1038/nature11711>



- Schmidt, J., Bux, M., Filipuzzi, E., Kulik, R., Waltimo, T., Weiger, R., & Walter, C. (mayo-junio de 2014). Influence of time, toothpaste and saliva in the retention of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* on different toothbrushes. *J. Appl. Oral Sci.*, 22(3), 152- 158. doi: <https://doi.org/10.1590/1678-775720130017>
- Şener, I., Gür, M., Verep, D., Güney, K., & Altuner, E. (Jul-Sep de 2017). Antimicrobial Activities and Some Flavonoids in Extracts of Some Medicinal Plants. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research* , 51(3). doi:10.5530/ijper.51.3s.20
- Seyedrezazadeh, E., Kolahian, S., Shahbazfar, A., Ansarin, K., Pour, M., Sakhinia, M., . . . Vaf, M. (2015). Effects of the flavanone combination hesperetin naringenin, and orange and grapefruit juices, on airway inflammation and remodeling in a murine asthma model. *Phytother. Res.*, 29(4). doi:10.1002/ptr.5292.
- Skibola, C., & Smith, M. (2000). Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free Radical Biology and Medicine* , 29(3-4) , 375-383. Obtenido de [https://sci-hub.se/10.1016/s0891-5849\(00\)00304-x](https://sci-hub.se/10.1016/s0891-5849(00)00304-x)
- Thenisch, N. L. (2006). Are mutans streptococci detected in preschool children a reliable predictive factor for dental caries risk? A systematic review. *Caries research*, 40(5), 366–374. doi:<https://doi.org/10.1159/000094280>
- Thenisch, N., Bachmann, L., Imfeld, T., Leisebach, T., & Steurer, J. (2006). Are mutans streptococci detected in preschool children a reliable predictive factor for dental



caries risk?. A systematic review. *Caries Res* , 40, 366-374.

doi:<http://dx.doi.org/10.1159/000094280>

Ting, W., Oman, Y., & Jiannong, Y. (2007). Determination of flavonoids and ascorbic acid in grape fruit peel and juice by capillary electrophoresis with electro chemical detection. *Food Chemistry*, 100, 1573-1579.

Tsao, T., Newman, M., Kwok, Y., & Horikoshi, A. (1982). Efecto de los agentes antimicrobianos chinos y occidentales sobre bacterias orales seleccionadas . *J Dent Res*, 61, 1103 - 1106. Obtenido de <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/00220345820610091501>

Tsui, V. W. ((2008)). The inhibitory effects of naringin on the growth of periodontal pathogens in vitro. *Phytotherapy research : PTR* , 22(3), 401–406 .
doi:<https://doi.org/10.1002/ptr.2338>

Uysal, B., Sozmen, F., Aktas, O., Oksa, B., & Odabas, E. (2011). Essential oil composition and antibacterial activity of the grapefruit (*Citrus Paradisi*. L) peel essential oils obtained by solvent-free microwave extraction: comparison with hydrodistillation. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(7). doi:10.1111/j.1365-2621.2011.02640

Van Tyne, D. &. (2014). Friend turned foe: evolution of enterococcal virulence and antibiotic resistance. . *Annual review of microbiology*, 68, 337–356.
doi:<https://doi.org/10.1146/annurev-micro-091213-113003>



Van, T., & Martin, M. &. (29 de April de 2013). Structure, Function, and Biology of the Enterococcus faecalis Cytolysin. *Toxins* , 5, 895-911.

doi:doi:10.3390/toxins5050895

Woods, J., & Washington, G. (1995). Pruebas de susceptibilidad antibacteriana: métodos de dilución y difusión en disco. . En *Manual de Microbiología Clínica*. Washington: Eds: Murray P., Baron E., Pfaller M. et al .: Sociedad Americana de Microbiología,.